Der Extrahepatische Stoffwechsel der Corticosteroide

(Eine Literaturübersicht)

Thomas Mincheff

1979

Aus der II. Klinik der Universität München
Komm. Direktor: Professor Dr. H.J. Karl

DER EXTRAHEPATISCHE STOFFWECHSEL DER CORTICOSTEROIDE
(Eine Literaturübersicht)

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der Ludwig Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Thomas Mincheff
aus
Donauwörth
Jahr
1979

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Mit Genehmigung der medizinischen Fakultät der Universität München

Berichterstatter:	Prof. Dr. H.J. Karl
Dekan:	Prof. Dr. W. Spann
Tag der mündlichen Prüfung:	26. Juni, 1979

Meinen Eltern in Dankbarkeit gewidmet.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41547009_0018

INHALTSVERZEICHNIS

EINLEITUNG

I – BIOCHEMISCHE GRUNDLAGEN ZUM THEMA 1

II – METHODEN 15

EXTRAHEPATISCHER STOFFWECHSEL DER CORTICOSTEROIDE

I – VERTEILUNG DER CORTICOSTEROIDE IM KÖRPER 22

II – STOFFWECHSEL IN DEN EINZELNEN GEWEBEN 24

1) AUGE 31

2) HAUT 35

3) FETTGEWEBE 45

4) GEHIRN 46

5) LUNGE 55

6) BINDEGEWEBE 60

7) KNOCHENGEWEBE 61

8) SYNOVIALGEWEBE 65

9) BLUT 72

10) NIERE 75

11) MAGEN – DARM UND MILZ 78

12) LYMPHATISCHES GEWEBE 80

13) MUSKULATUR 86

14) BRUSTDRÜSE 87

15) NEBENNIERENRINDE 94

16) PLAZENTA 96

17) SPEICHELDRÜSEN 97

III – ZUSAMMENFASSUNG 99

IV – LITERATURVERZEICHNIS 105

V – LEBENSLAUF

EINLEITUNG

Der extrahepatische Stoffwechsel von Gluco- und Mineralocorticoiden ist seit mehr als 20 Jahren Gegenstand zahlreicher Untersuchungen in vivo und in vitro, deren Ergebnisse in einer Vielzahl von Veröffentlichungen Ausdruck fanden.

Obwohl die Leber die überragende Rolle bei den katabolen Vorgängen übernimmt, gibt es Ergebnisse, die dafür sprechen, daß der Stoffwechsel der Corticosteroide (Cortisol, Corticosteron und Aldosteron als Hauptcorticosteroide) auch außerhalb der Leber in anderen Geweben repräsentiert ist. Der Begriff Stoffwechsel beinhaltet nicht nur den Abbau dieser Stoffe, sondern auch eine Vielzahl von Umwandlungsvorgängen.

Von vielen Autoren wurde schon über die Oxidation von Cortisol zu Cortison in der Niere und in anderen Geweben berichtet: Hurlock & Talalay (117), Mahesh & Ulrich (144), Berliner et al (16) und Ganis et al (84). Berliner, Grosser & Dougherty (17) haben gezeigt, daß die ausgeweidete Ratte noch imstande ist, Cortisol in verschiedene Produkte abzubauen, und Gold (95) entdeckte im Urin von hepatektomierten Hunden Metaboliten, die aus Cortisol entstanden sind.

Das Ziel dieser Arbeit ist eine erstmalige Zusammenfassung der vorhandenen Literatur, die es ermöglichen soll, eine Übersicht über den extrahepatischen Stoffwechsel der wichtigsten Corticosteroide zu bieten. In den folgenden Abschnitten werden verschiedene Gewebstypen behandelt. Dabei werden qualitative und quantitative Unterschiede des extrahepatischen Corticosteroidstoffwechsels sowohl in normalen als auch in pathologischen Geweben berücksichtigt.

I - BIOCHEMISCHE GRUNDLAGEN ZUM THEMA

In dieser Abhandlung werden nur die wichtigsten Corticosteroide berücksichtigt: Cortisol, Cortison, Corticosteron und Aldosteron. Cortisol (Hydrocortison) und Corticosteron sind die Hauptglucocorticoidprodukte der Nebennierenrinde. Unter dem Einfluß enzymatischer Reaktionen stellt sich ein Gleichgewicht zwischen Cortisol und Cortison ein, das unter Normalbedingungen etwas zugunsten des Cortisons verschoben ist (206). Letzteres kann aber unter geeigneten Bedingungen wieder zu Cortisol reduziert werden. Aldosteron, das wichtigste Mineralocorticoid, wird ebenfalls in der Nebennierenrinde produziert. Corticosteron und Cortisol haben einen dem Aldosteron analogen, jedoch viel weniger ausgeprägten Effekt auf den Wasser- und Elektrolythaushalt. Die mineralocorticoide Wirksamkeit von Aldosteron, Corticosteron, Cortisol und Cortison verhält sich wie 1000:1,4:0,8:0,6 (206).

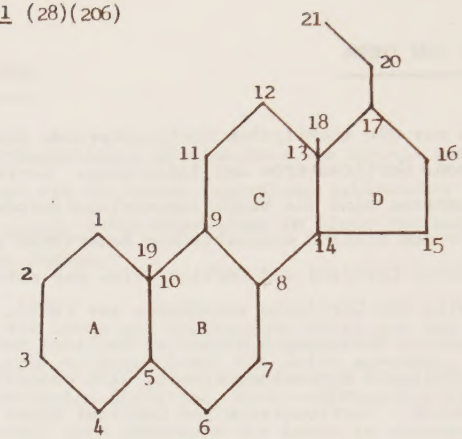
Corticosteroide werden keineswegs nur von Säugetieren synthetisiert, wegen der Vergleichbarkeit ihrer organischen Funktionen mit denen des Menschen eignen sie sich jedoch besonders für Untersuchungen. Es gibt aber auch innerhalb der Säugetiere beträchtliche Unterschiede, die bei tierexperimentellen Untersuchungen berücksichtigt werden müssen. Ratten und Hasen beispielsweise produzieren hauptsächlich Corticosteron, im Gegensatz zu Primaten, Hunden, Schafen und Katzen, bei denen wie beim Menschen Cortisol im Vordergrund steht (38).

In Abb. I (28)(206) sind die Strukturen der wichtigsten Corticosteroide mit ihren trivialen und systematischen Namen aufgezeichnet.

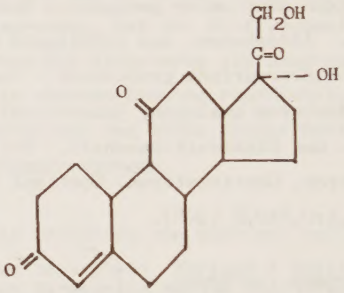
Ein Steroidgerüst, aus 21 Kohlenstoffatomen wird als ein Corticosteroid bezeichnet. Die biologisch aktiven Corticosteroide besitzen eine Δ^4-3-Ketogruppierung, die für ihre biologische Wirkung wichtig ist (126)(223). Für die Glucocorticoid-entzündungshemmende Wirkung sind zudem die folgenden Gruppierungen nötig: 11-Keto oder 11ß-OH und 17α-OH.

An bestimmten Stellen des Steroidgerüstes vollzieht sich der Stoffwechsel von Gluco- und Mineralocorticoiden durch eine Serie von Oxidations-Reduktions-Reaktionen (28)(57)(223).

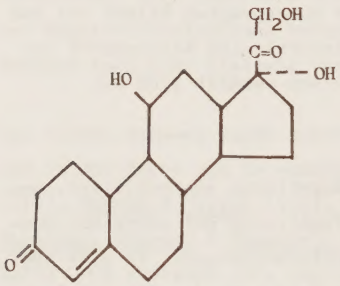
Abb. 1 (28)(206)



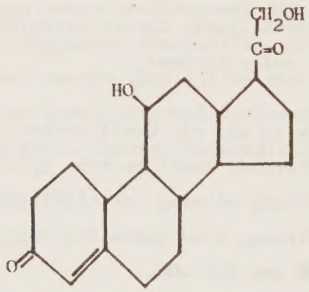
Hauptstruktur
des Steroidgerüsts



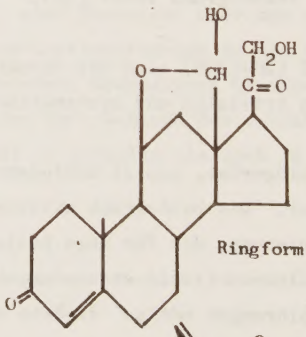
CORTISON (COMPOUND E)
4-Pregnen-17α,21-diol-3,11,20-trion



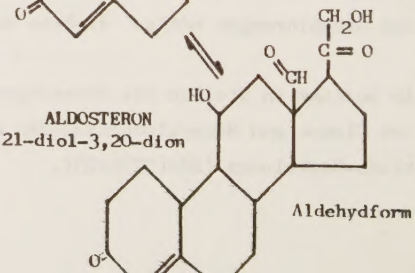
CORTISOL (HYDROCORTISON
COMPOUND F)
4-Pregnen-11ß,17α,21-triol-3,20-dion



CORTICOSTERON (COMPOUND B)
4-Pregnen-11ß,21-diol-3,20-dion



Ringform



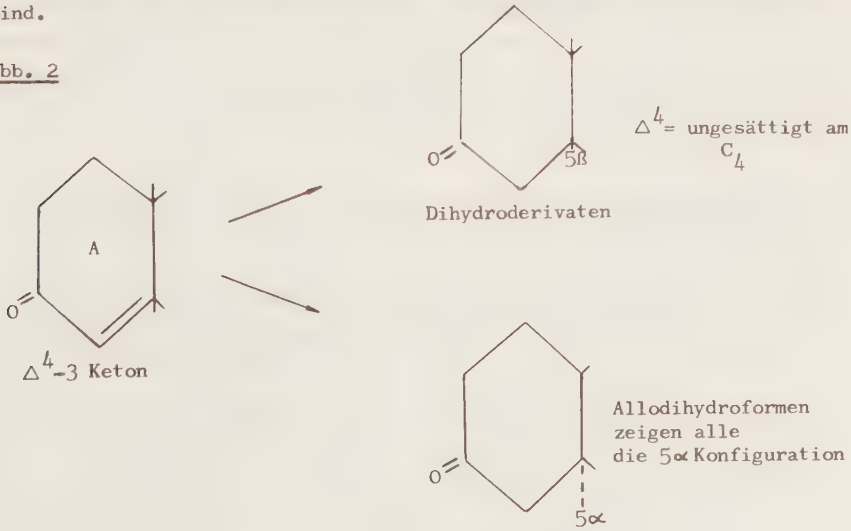
ALDOSTERON
4-Pregnen-18-al-11ß,21-diol-3,20-dion

Aldehydform

Cortisol ist das Hauptprodukt der Nebennierenrinde beim Menschen. Es wird im Plasma zu etwa 95% an Transcortin, ein Plasma-Globulin gebunden, im Gegensatz zu Aldosteron, das nur zu 60% gebunden wird. Der Rest bleibt in freier Form erhalten (206). Nur in freier Form ist Cortisol physiologisch aktiv; dies gilt allgemein auch für Corticosteron und Aldosteron. Unter dem Einfluß von Enzymen (z.B. 11ß-Hydroxydehydrogenase) wird ein Teil des Cortisols oxidiert und in Cortison umgewandelt, wobei das Gleichgewicht unter normalen Bedingungen eher etwas zugunsten des Cortisons verschoben ist (206). Der Angriffspunkt dieses Enzyms ist die Hydroxygruppe des Cortisols am C_{11} des Steroidgerüstes (223). Unter geeigneten Bedingungen kann Cortison wieder zu Cortisol reduziert werden.

Beim weiteren Abbau, der sich in einer Reduktion im Ring-A vollzieht, entstehen zunächst durch Anlagerung zweier Wasserstoffionen an die Doppelbindung 4-5 die Dihydro-, nach Hinzufügung von zwei weiteren Wasserstoffionen an die 3-Ketogruppe die Tetrahydroderivate von Cortisol und Cortison. Die erste Reduktion wird durch die Enzyme Δ^4- 5α-,-5ß-Reduktase katalysiert, wobei TPNH als Nucleotid und Coenzym die Wasserstoffionen für diese und weitere Reaktionen bereitstellt (126)(157)(220). Produkte sind die Dihydroderivate, 5α- und 5ß-Pregnan, die, wie Abb. 2 veranschaulicht, Isomere sind.

Abb. 2



Diese Reaktion ist nicht umkehrbar (28). Außerdem ist die Reduktion dieser 4-5 Doppelbindung für den Stoffwechsel der Corticosteroide von höchster Wichtigkeit, weil die Geschwindigkeit des Abbauvorganges allein von dieser Reaktion abhängig ist. Mit anderen Worten wirkt diese Reaktion als Geschwindigkeitsdeterminante für den Ablauf des Stoffwechsels und die Inaktivierung des Moleküles (28)(140).

Außer der NNR enthalten auch andere Gewebe die Δ^4- 5α-Reduktase, welche die 5α-Pregnane (Allo-Form) produziert, wobei die Leber sowohl die 5α-, als auch die 5ß-Reduktase enthält (28)(56). Δ^4-5ß-Reduktase produziert die 5ß-Pregnane, die unter normalen Bedingungen im Urin nachgewiesen werden können, aber inaktiv sind. Dagegen können die 5α-Isomere voll aktiv sein, wie z.B. einige männliche Hormone, die zuerst zur 5α-Form reduziert werden müssen, um biologisch wirksam werden zu können (28)(56)(221)(223). Cortisol wird meistens in die 5ß-Form umgewandelt (28).

In der folgenden Reaktion, - sie ist umkehrbar -, entstehen durch Reduktion der 5α- und 5ß-Pregnane die Tetrahydroderivate. Diese Reaktion wird durch die Enzyme 3α- und 3ß-Reduktase vermittelt. Die Reduktion des Ketons erfolgt am C_3, wobei eine 3-Hydroxyverbindung entsteht. Die Reduktion des 3-Ketons führt überwiegend zu der 3α-Konfiguration. Die Reduktion der 4-5 Doppelbindung ist Voraussetzung für die weitere Reduktion des 3-Ketons. Diese Reihenfolge ist aber von den Gruppen an Positionen 2 und 6 des Steroidgerüstes abhängig (28). Jetzt ist der A-Ring gesättigt und das Steroid inaktiv geworden.

Erläuterungen zum Text sind hier und in den folgenden Abbildungen enthalten: Lit. (28)

CORTISOL

1) Dihydrocortisol (DHF) (5ß-Pregnan) → Tetrahydrocortisol (THF, Urocortisol), wobei überwiegend 3α-Hydroxyverbindungen produziert werden.

2) Allodihydrocortisol (5α-Pregnan) → Allotetrahydrocortisol
a) Reichstein Substanz V - (3ß)
b) Reichstein Substanz C - (3α)

Es entsteht überwiegend Reichstein Substanz V

CORTISON
- 1) Dihydrocortison (DHE) (5ß) → Tetrahydrocortison (THE, Urocortison), wobei die 3α-Hydroxyform überwiegt.
- 2) Allodihydrocortison (5α) → Allotetrahydrocortison
  a) Reichstein Substanz D
  b) Reichstein Substanz D - 3α Form

In einem anderen Schritt des Stoffwechsels wird der Keton am C_{20} durch Enzyme hydriert (20α- und 20ß-Reduktase, auch Hydroxydehydrogenase genannt). Es entstehen die Cortole und Cortolone.

1) Tetrahydrocortisol (THF) (5ß) →
   a) Cortol
   b) ß-Cortol

2a) Reichstein Substanz V (3ß, 5α) →
   a) Reichstein Substanz A (20ß)
   b) Reichstein Substanz epi-A (20α)

2b) Reichstein Substanz C (3α, 5α) →
   a) ß-Allocortol (20ß)
   b) Allocortol (20α)

Wirkt dieses Enzym auf 5ß-Pregnane, entstehen überwiegend 20α-Hydroxyverbindungen, wirkt es aber auf 5α-Pregnane, so entstehen überwiegend 20ß-Hydroxyverbindungen. Die Reduktion an der 20-Ketogruppe ist irreversibel. Etwa 1/3 der Metaboliten des Cortisols im Urin sind 20-Hydroxyderivate, wobei die 20α-Form dominiert (28).

1) Tetrahydrocortison (THE) (5ß) →
   a) ß-Cortolon (20ß)
   b) Cortolon (20α)

2) Allo-THE (Reichstein Substanz D) (3α, 5α) →
   a) ß-Allocortolon (20ß)
   b) Allocortolon (20α)

Cortisol und Cortison können auch direkt am C_{20} hydriert werden, ohne die anderen Reaktionen durchmachen zu müssen.

Dabei entstehen:

1) Cortisol →
   a) Reichstein Substanz E (20ß)
   b) Reichstein Substanz epi-E (20α)

2) Cortison →
   a) Reichstein Substanz U (20ß)
   b) Reichstein Substanz epi-U (20α)

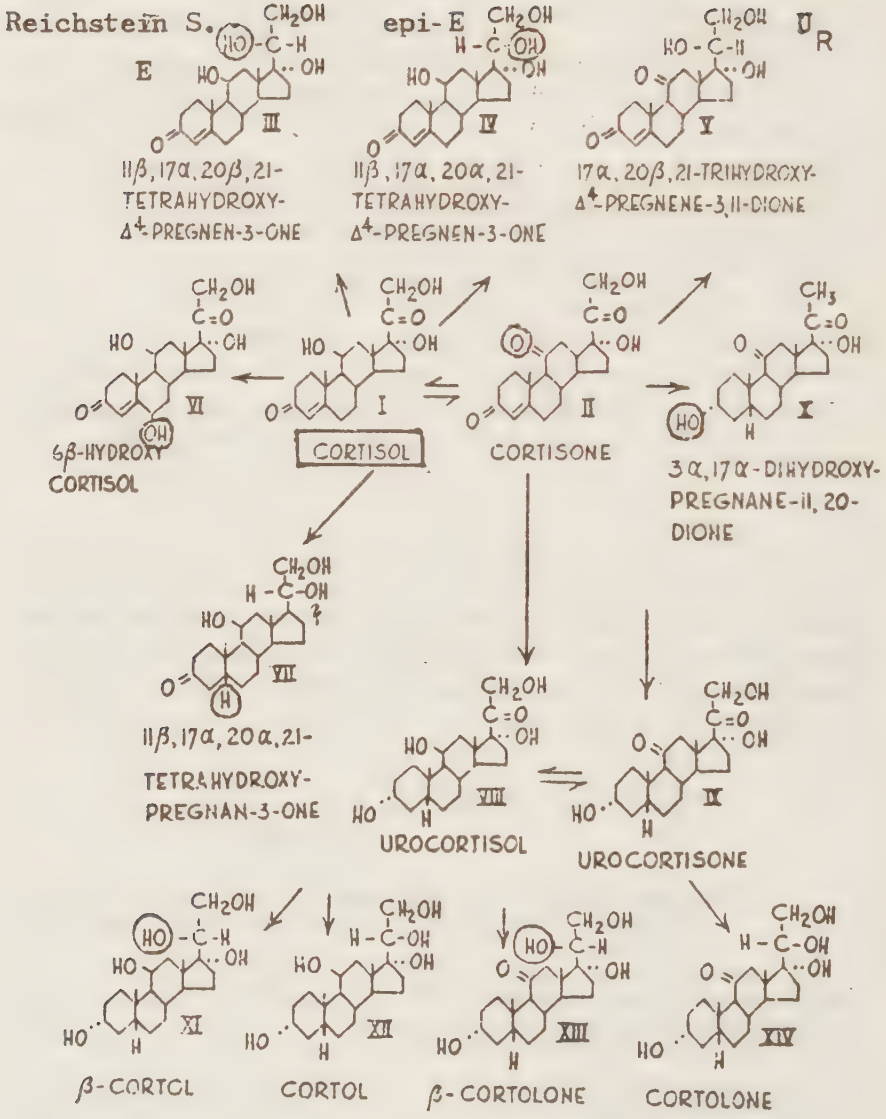


Abb.3: Der Stoffwechsel von Cortisol und Cortison zu C_{21} Metaboliten (210).

NNR
I, II, III, IV

URIN
Überwiegend VIII, IX, alle anderen Metaboliten ebenfalls nachweisbar

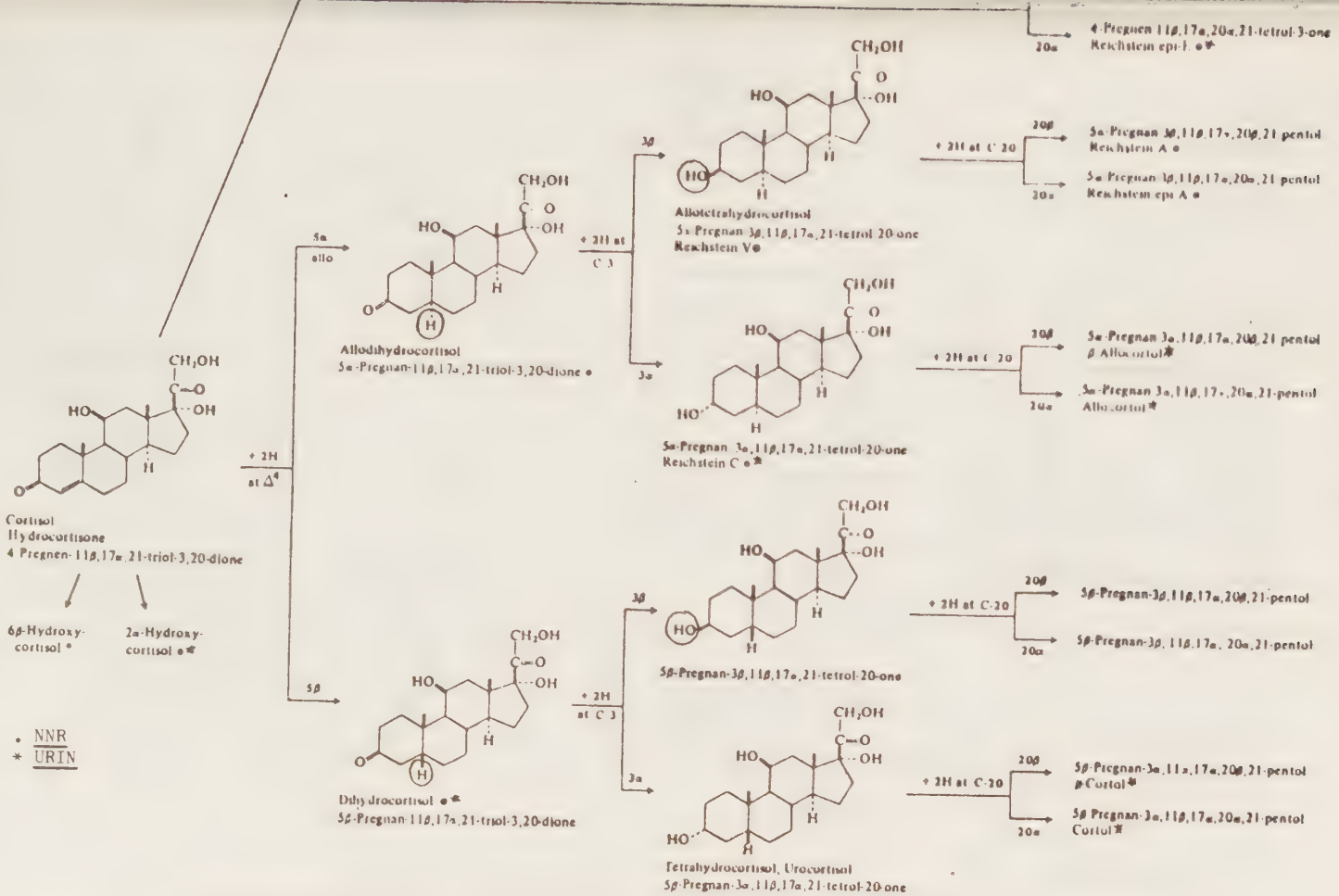


Abb. 4: Stoffwechsel von Cortisol (28).

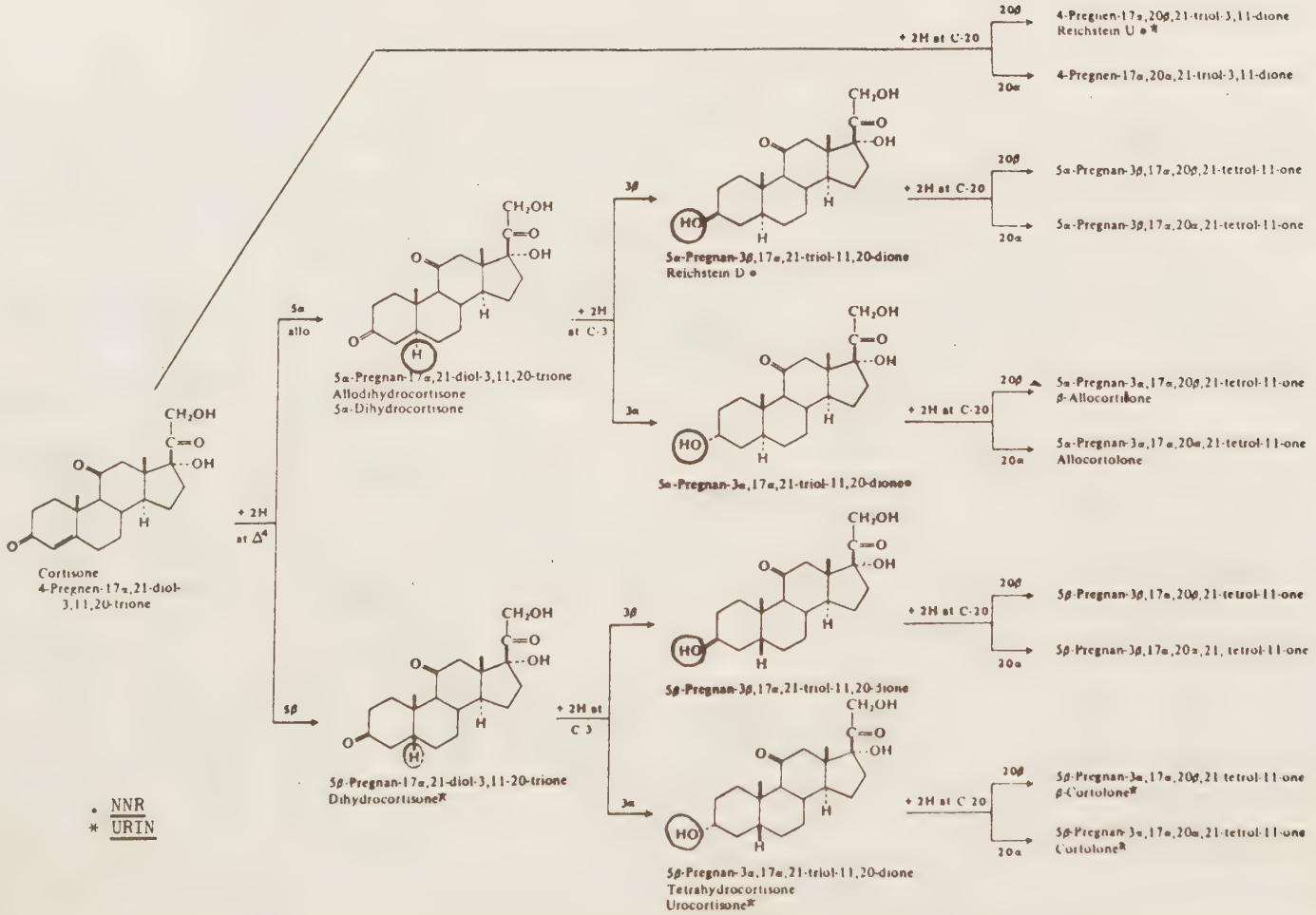


Abb. 5: Stoffwechsel von Cortison (28).

Die Tetrahydroderivate, sowie die Cortole und Cortolone stellen den größten Anteil der Cortisolmetaboliten dar. Etwa 5-10% des Cortisols und Cortisons werden durch oxidative Abspaltung der Seitenkette weiter zu 17-Ketosteroiden abgebaut. Diese Reaktion wird durch die C_{17-21}Lyase oder Desmolase vermittelt. Durch diese Oxidation entstehen folgende Produkte mit einer Carbonylgruppe am C_{17} (81)(206):

THF ⟶ a) 11-Hydroxyetiocholanolon
b) 11-Hydroxyandrosteron

THE ⟶ a) 11-Ketoetiocholanolon
b) 11-Ketoandrosteron

C_{19} Steroide oder 17-Ketosteroide

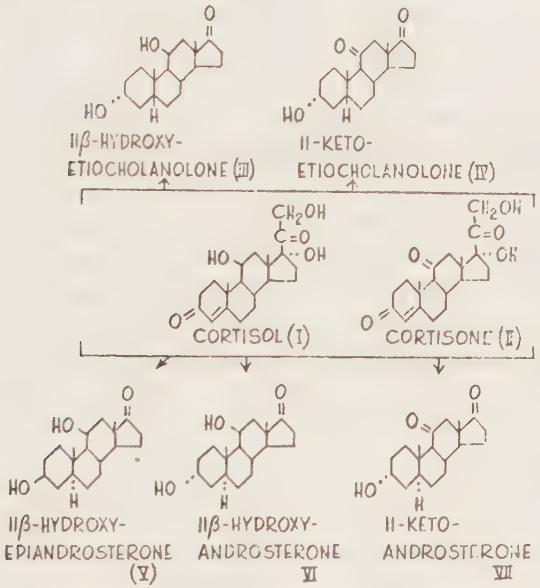


Abb. 6: Stoffwechsel von Cortisol und Cortison zu 17-Ketosteroiden (210).

NNR	URIN
I, II	Überwiegend III, IV Zusätzlich V, VI, VII

Außer bei den reduzierten Formen von Cortisol und Cortison ist die Abspaltung der Seitenkette auch direkt an Cortisol und Cortison möglich, wobei aus Cortisol 11ß-Hydroxyandrostenedion, aus Cortison Adrenosteron entsteht (84). Analoge Abbauprodukte entstehen vor allem aus den androgenen Steroiden der NNR und der Gonaden (206).

Beim gesunden Menschen stellt das 6ß-Hydroxycortisol einen relativ unbedeutenden Metaboliten dar, obwohl es beim Kleinkind und bei der Spätgestose eine gewisse Rolle spielt (206). Das 6ß-Hydroxycortisol kann ohne Kopplung in freier Form durch die Niere ausgeschieden (206), auf zwei verschiedenen Wegen jedoch weiter modifiziert werden: Bei der Oxidation durch die 11ß-Hydroxydehydrogenase entsteht 6ß-Hydroxycortison, bei der Reduktion am C_{20} durch die 20α-ß-Reduktase entsteht 20ß-Dihydro-6ß-OH-Cortisol (54). Folglich kann 20ß-Dihydro-6ß-OH-Cortisol auf zwei Wegen gebildet werden:

a) 20ß-Dihydrocortisol (Reichstein Substanz E) wird am C_6 durch eine Hydroxylase ß-hydroxyliert, oder
b) 6ß-OH-Cortisol wird am C_{20} reduziert.

Das 20ß-Dihydro-6ß-OH-Cortisol und 6ß-OH-Cortison spielen, verglichen mit den anderen Metaboliten, eine untergeordnete Rolle (54).

Corticosteron unterliegt dem Cortisol analogen metabolischen Umbauvorgängen. Sein Abbau führt in erster Linie zur Bildung von Tetrahydroderivaten (28)(206). Anders als Cortisol und Aldosteron, die überwiegend zu 5ß-Pregnanen abgebaut werden, entstehen beim Abbau von Corticosteron etwa gleiche Mengen von 5α- und 5ß-Pregnanen (28).

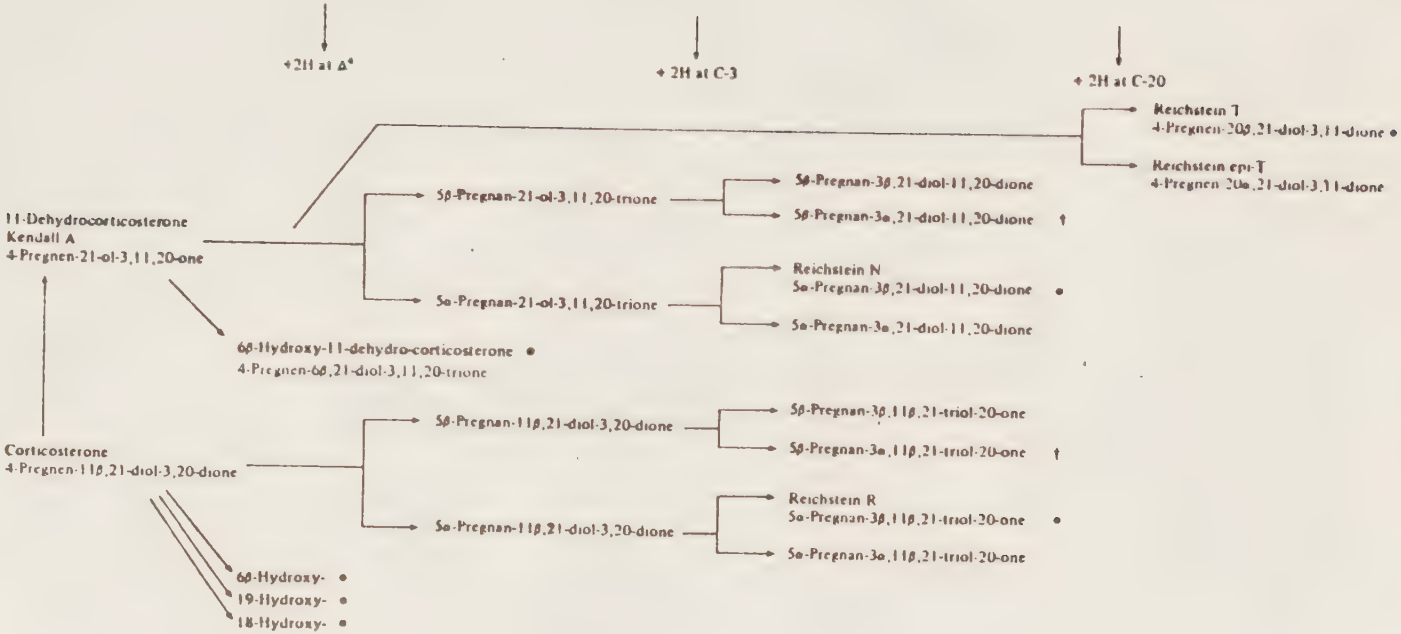


Abb. 7: Stoffwechsel von Corticosteron (28).

• NNR † URIN

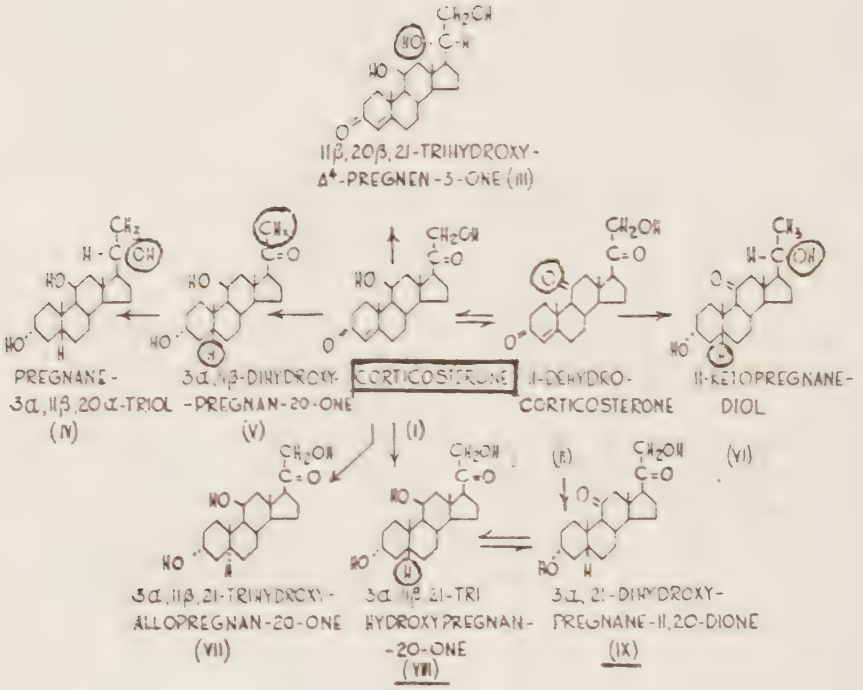


Abb. 8: Stoffwechsel von Corticosteron (210).

NNR	URIN
I, II	Überwiegend VIII, IX
	Zusätzlich IV, V, VI, VII

Es wurden vier Metaboliten identifiziert: 4,5α-Dihydroaldosteron, sowie die 3ß,5α-, 3α,5ß- und 3α,5α-Isomere des Tetrahydroaldosterons (131). Überwiegend wird die 3α,5ß-Tetrahydroform des Aldosteron gebildet. Die wichtigsten Ausscheidungsformen sind das am C_{18} mit Glucuronsäure gekoppelte Aldosteron (3-oxo Konjugat) und das am C_3 ebenfalls mit Glucuronsäure konjugierte Tetrahydroaldosteron (206)(217).

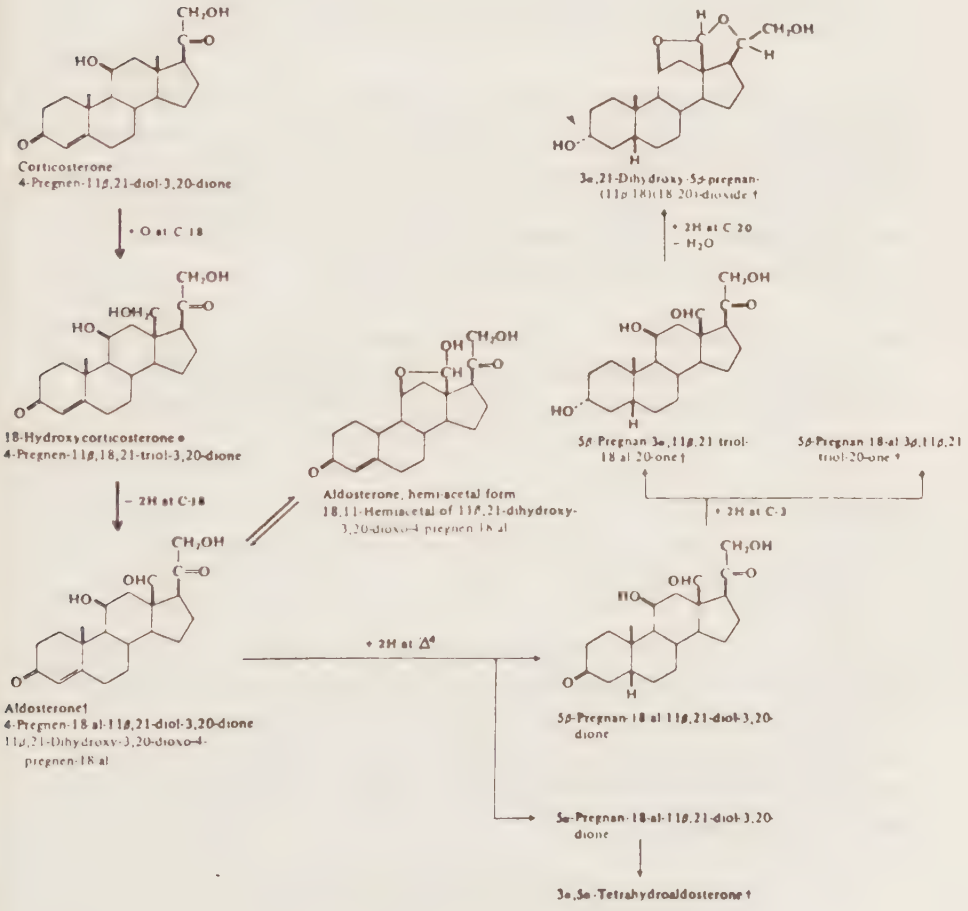


Abb. 9: Stoffwechsel von Aldosteron (28).

• NNR † URIN

Die Gluco- und Mineralocorticoide können als Sulfate, Glucuronide oder als freie Metaboliten im Urin ausgeschieden werden. Um wasserlöslich und damit leichter harngängig zu werden, werden sowohl die 17-Ketosteroide (C_{19}) als auch die Tetrahydrometaboliten, sowie die Cortole und Cortolone an der C_3-Hydroxylgruppe mit Glucuronsäure, oder in geringem Ausmaß mit Schwefelsäure konjugiert (206). Für die Konjugation ist die Reduktion des A-Ringes eine wichtige Voraussetzung (20). Biologisch aktive Metaboliten gelangen nur in geringem Umfang in den Urin. 6ß-Hydroxycortisol kann auch ohne Kopplung, also in freier Form durch die Niere ausgeschieden werden (28)(206).

Durch in vitro Untersuchungen konnte die Bildung von Konjugaten in der Leber, der Nebennierenrinde, der Niere, dem Ovar, dem Testis, dem Darm und der Plazenta nachgewiesen werden (201). Glucuronide werden durch Übertragung der Glucuronsäure von der Uridindiphosphatglucuronsäure auf den alkoholischen oder phenolischen Akzeptor gebildet. Die Glucuronosyltransferase ist in den Mikrosomen lokalisiert (201).

An der Sulfatbildung ist ein sulfatübertragendes Enzym, die Sulfokinase beteiligt (201). Die Sulfokinase benützt 3'-phospho-Adenosin-5'-Phosphosulfat (PAPS) als Sulfatspender und benötigt ATP und Mg als Kofaktoren (28).

Von den Corticosteroiden sind Cortisol und Corticosteron als Sulfatkonjugate im Harn gefunden worden, wobei Corticosteron überwiegend als Sulfat ausgeschieden wird (201).

Die Konjugation von Corticosteroidmetaboliten zu inaktiven Verbindungen wird allgemein als terminaler Schritt des Stoffwechsels angenommen. Dies trifft eigentlich nur für die Glucuronide zu. Corticosteroid-Sulfat-Konjugate sind möglicherweise weiterhin biologisch aktiv (28) und unterliegen einem weiteren Stoffwechsel, der prinzipiell zwei verschiedene Wege aufweist (201).

1) Das Steroidsulfat wird durch Sulfatase in das freie Steroid überführt, dieses wird dann weiter metabolisiert (201).

2) Das Steroidsulfat wird ohne Abspaltung der Sulfatgruppe weiter metabolisiert (201).

Pasqualini (179), Pasqualini & Uhrich (180) beobachteten die direkte Hydrierung von Corticosteron 21-Sulfat zu den entsprechenden Tetrahydroderivaten. Weiterhin berichteten sie, daß Corticosteronsulfat gespalten werden kann, wobei Corticosteron freigesetzt und weiter zu verschiedenen Metaboliten abgebaut wird, die dann anschließend mit Glucuronsäure oder wieder mit Sulfat konjugiert werden können (179)(180). Ähnliche Ergebnisse wurden von Nakada, Fukuschima, Bradlow, Hellman & Gallagher (167) an Hydrocortison (Cortisol) 21-Sulfat aufgezeigt.

Die Halbwertzeit beträgt für Cortisol ca. 90, für Corticosteron ca. 60, für Aldosteron ca. 30 Minuten (206). Die Nieren stellen beim Menschen das Hauptausscheidungsorgan dar, eine begrenzte Ausscheidung ist auch über die Galle, den Speichel und den Magensaft möglich (206).

II - METHODEN

Die Art und Menge der synthetisierten und metabolisierten Steroide und die verschiedenen biochemischen Vorgänge waren lange Zeit unbekannt. Erst durch die Einführung spezifischer Methoden konnten die Corticosteroide, ihre Metaboliten und die Serie von Umbauprozessen in den einzelnen Geweben aufgedeckt werden.

Eine bewährte Methode war die Einführung von radioisotopisch markierten Corticosteroiden. Die Corticosteroide (Cortisol, Cortison, Corticosteron, Aldosteron) werden meist mit Tritium (^{3}H) oder Kohlenstoff (^{14}C) markiert und dabei wird es möglich, ihren zeitlichen Verlauf und aus der spezifischen Aktivität ihre Konzentration und mögliche Umbauvorgänge im Blut, den Geweben und im Urin festzustellen (79). Um die Strahlenbelastung so niedrig wie nur möglich zu halten, werden nur kleine Mengen radioaktiv markierter Corticosteroide benutzt. Außerdem lassen die sehr kleinen Mengen den Transport und Stoffwechsel des endogenen Hormons unbeeinflußt (123). Verteilung, Abbau, Ausscheidung und biologische Wirkung der markierten Hormone müssen den Eigenschaften der endogenen Hormone entsprechen (123).

Die radioaktiv markierten Corticosteroide werden zuerst chromatographisch in zwei Systemen (Benzin/Foramid und Benzin:Methanol:Aethyl-Acetat:Wasser = 1:1:0,1:1) gereinigt und dann rekristallisiert (27)(141). Danach kann das kristalline Steroid in Aethanol unter Zusatz einer Glucoselösung aufgelöst werden. Daraus kann eine bestimmte Menge i.v. infundiert werden (27)(79)(186). Oral wirksame Corticosteroide können in Gelatinekapseln verabreicht werden (186).

In bestimmten Abständen können Blut-, Urin- oder Gewebsproben entnommen und die freien Corticosteroide und ihre Metaboliten qualitativ und quantitativ bestimmt werden. Dies geschieht durch chromatographische Trennung und szintillatorische Zählverfahren (134). Gewebsproben müssen zuerst mit Sand homogenisiert werden.

In der Anwendung der Radioisotopen gibt es bei den verschiedenen Autoren gewisse Unterschiede. Prinzipiell sind immer drei wichtige Vorgänge notwendig: Extraktion, Reinigung und chromatographische Isolation der verschiedenen Steroide.

Die Corticosteroide und ihre Metaboliten sind zum Teil in konjugierter Form (Glucuronide, Sulfate) vorhanden. Durch die Anwendung von ß-Glucuronidase und Sulfatase können die konjugierten Steroide hydrolysiert werden, sodaß die weitere Trennung oder die reine Darstellung dieser Substanzen möglich ist.

Aus Plasma- und Urinproben können die Steroide mit Dichloromethan oder Chloroform extrahiert werden. Der Extrakt wird zunächst mit einer alkalischen, anschließend mit einer Säurelösung gewaschen, zentrifugiert und getrocknet. Der Rest wird in Aethanol und Wasser aufgelöst. Anschließend wird eine Reihe von Extraktionen durchgeführt, zunächst mit Aether, dann mit Dichloromethan, wobei jeweils die wässerige Phase verworfen wird (186). Der Dichloromethanrest wird wieder abgetrocknet. Die weitere Reinigung und Auftrennung des neutralen Extraktes erfolgt papierchromatographisch (27)(79)(123)(186).

Der Neutralextrakt wird zuerst mit System A (= Cyclohexan:Benzin:Methanol: Wasser) oder Bp Bush (= Benzin:Chloroform:Methanol:Wasser) papierchroma-

tographiert (27)(79)(160)(186). Hier erfolgt die Trennung der weniger polaren Steroide von denen mit ausgeprägter Polarität, sowie eine Entfernung von Begleitstoffen (123). Die Tetrahydrometaboliten und alle weiteren Metaboliten können dann durch zusätzliche Steroidmarkierungen identifiziert werden. Zur Markierung werden am Beginn des Papierchromatographieprozesses Standardsteroide aufgetragen, die parallel zu den gereinigten Extrakten laufen (71). Sie zeigen die gleiche Laufgeschwindigkeit wie die gesuchten Substanzen. Für die Lokalisation der Steroidmarkierungen wird UV-Licht eingesetzt (186). Früher erfolgte die qualitative und quantitative Auswertung mit Hilfe von Tetrazolium blau und NaOH in UV-Licht (71), aber seit der Einführung von Radioisotopen haben sich szintillatorische Zählverfahren durchgesetzt.

Weitere Trennungen können mit System B (= B_5 Bush = Benzin:Methanol: Wasser) durchgeführt werden. Hier erfolgt die Trennung von THF, Allo-THF und THE (79)(123)(160). Durch die Systeme C und D (= S-1 = Benzin: Aethyl-Acetat:Methanol:Wasser) ergibt sich die Trennung von THE, THF, Cortol und Cortolon (79)(160). Für die Trennung der C_{19} Steroide wird das System B1 Bush (= Petroleum Aether:Toluene:Methanol:Wasser) eingesetzt (79)(160).

Nach Trennung der Steroidmetaboliten werden diese weiter durch Acetylierung und Chromatographie charakterisiert (27)(79)(186). Sie werden in drei Systemen gereinigt, um radioaktive Begleitstoffe zu extrahieren: 1) Cyclohexan 100 : Benzin 25 : Methanol 100 : Wasser 10 2) Cyclohexan 100 : Nitromethan 50 : Methanol 50 3) Cyclohexan 100 : Methanol 100 : Wasser 10 (186). Vor der dritten und letzten Chromatographie werden alle Derivate durch CrO_3 zur 11-Oxoform oxidiert (186). Da die radioaktiv markierten Steroidacetate nun hochgereinigt sind, können sie szintillatorisch gezählt werden.

Beim <u>in vitro</u> Verfahren werden die aufbereiteten Gewebsproben mit radioaktiv markierten Corticosteroiden inkubiert (120)(160). Für Gewebsproben aus <u>in vivo</u> und <u>in vitro</u> Untersuchungen werden identische Trennungsverfahren angewandt. Im Prinzip entspricht das Trennungsverfahren dem oben beschriebenen, bei Plasma- und Urinproben angewandten Verfahren, mit Extraktion, Reinigung und Trennung. In der Durchführung bestehen

kleine Unterschiede: Die Extraktion der Steroide aus dem Inkubationsmedium oder dem frisch entnommenen Gewebe erfolgt mit Aethanol. Der Extrakt wird zentrifugiert, getrocknet, der Rest in Wasser aufgelöst. Aus der wässerigen Lösung können nicht-konjugierte Steroide mit Dichloromethan, konjugierte Steroide mit n-Butanol extrahiert werden. Nach Hydrolyse der konjugierten Steroide entspricht der weitere Verlauf dem bereits oben beschriebenen (120)(141)(160).

Bei den einzelnen Autoren zeigen sich Unterschiede in der Anwendung und Zusammensetzung der für die Chromatographie benötigten Systeme. Abbildung 10 (160) ermöglicht einen Überblick über die Nomenklatur der verschiedenen Systeme und die unterschiedlichen chromatographischen Trennungsverfahren.

Schlüsselerläuterung zur nebenstehenden Abb. 10

SYSTEM	LÖSUNGEN UND IHR MISCHUNGSVERHÄLTNIS
Y	Aethyl-Acetat/Chloroform/Methanol/Wasser (25:75:50:50)
S-1	Benzin/Aethyl-Acetat/Methanol/Wasser (50:40:50:50)
(5% Borsäure)	(gleich wie S-1) vor der Auftragung wurde das Papier in 5% Borsäure getaucht und unter Abzug getrocknet.
Bp	Benzin/Chloroform/Methanol/Wasser (50:50:50:50)
B-5	Benzin/Methanol/Wasser (1.000:525:475)
(5% Borsäure)	(gleich wie B-5) vor der Auftragung wurde das Papier in 5% Borsäure getaucht und unter Abzug getrocknet.
SL_{10}	Toluen/Tert-Butaol/Methanol/0,02 M Borpuffer (pH 9,0) (170:40:30:100)(in Borpuffer vorimprägniert und getrocknet)
B-1	Petroleum Aether/Toluen/Methanol/Wasser (25:25:35:15)
B-3	Petroleum Aether/Benzin/Methanol/Wasser (33:17:40:10)

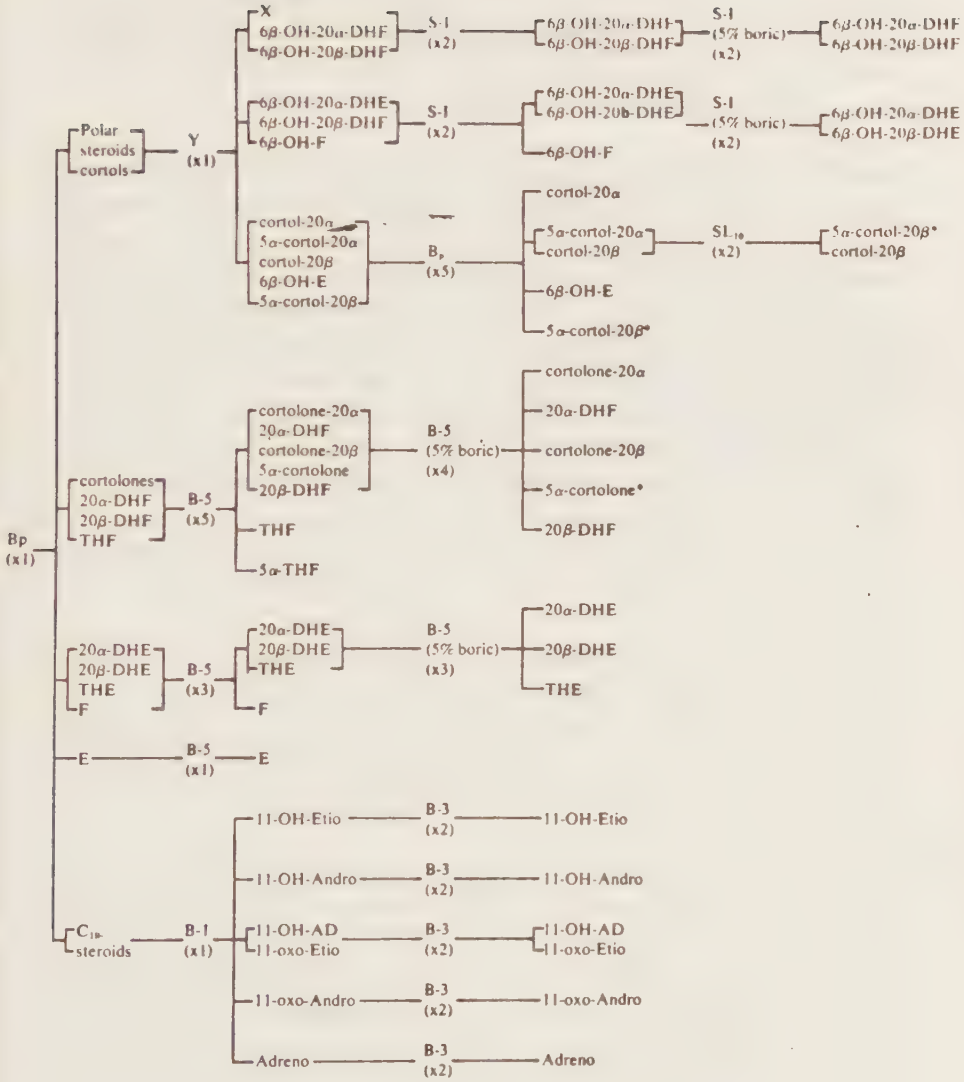


Abb. 10: Papierchromatographische Trennung der freien Cortisolmetaboliten (160).

(Die eingeklammerten Ziffern geben die Laufstrecke an)

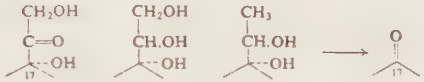
Frühere Methoden beruhten auf einer kolorimetrischen Bestimmung der Corticosteroide (28). Eine weitverbreitete Methode ist die Porter & Silber Reaktion für 17-Hydroxycorticosteroide. Dadurch können alle Corticosteroide mit einer Seitenkette bestimmt werden (28).

Zuerst, wie oben dargestellt, müssen die Steroidkonjugate (Sulfate und Glucuronide) aus ihren Esterverbindungen freigesetzt werden. Die freien Steroide können anschließend mit Chloroform extrahiert werden. Dieser Extrakt wird mit einer alkalischen, dann mit einer sauren Reagenz gewaschen, um dadurch evtl. vorhandene, stark alkalische oder saure Steroide zu entfernen. Der Rest wird getrocknet und dann an Streifen aus Magnesiumtrisilicat (florisil) papierchromatographiert. Der letzte Extrakt wird dann mit Phenylhydrazin in konzentrierter Schwefelsäure behandelt. Corticosteroide mit einer Dihydroxyaceton-Seitenkette reagieren zu Phenylhydrazonen, die dann kolorimetrisch oder spektrophotometrisch quantitativ erfaßt werden können (28). Die an eine 17,21-Dihydroxy-20-Keto-Gruppe gebundene gelbe Farbreaktion erfaßt Cortisol, Cortison und deren Tetrahydroderivate, aber nicht Cortole und Cortolone (138)(149)(206).

Durch die fluorimetrischen Methoden von Silber und anderen können die beiden 11ß-Hydroxycorticosteroide, Cortisol und Corticosteron nachgewiesen werden (28)(206). Es wird mit Dichloromethan extrahiert und mit NaOH gewaschen. Der Extrakt wird dann mit einer Schwefelsäure-Aethanol-Reagenz gemischt und mit einem Farrand-Fluorimeter analysiert (186).

Eine weitere Methode wurde von Norymberski & Mitarb. entwickelt. Sie erfaßt auch die 17-Hydroxycorticosteroide, deren Seitenkettenkonfiguration von der des Cortisols abweicht (206). Damit werden Cortole und Cortolone bestimmt, ebenso eine Reihe anderer Vorstufen und Abbauprodukte, die nicht nur aus den Nebennieren, sondern auch aus den Gonaden stammen (206). Natriumwismutat kann eine Reihe von 17-Hydroxycorticosteroiden zu 17-Ketosteroiden oxidieren (28)(138). Dadurch ist es möglich, die Konzentration der vorhandenen 17-Hydroxycorticosteroide festzustellen, indem man die Konzentration der 17-Ketosteroide vor und nach Oxidation durch Wismutat bestimmt (28). Erhöht sich die Konzentration der 17-Ketosteroide nach dem Oxidationsvorgang, dann ist die Erhöhung ein Maß für die Konzentration der oxidierten 17-Hydroxyformen (28). Die weitere Bestimmung erfolgt kolori-

metrisch durch die Zimmerman-Reaktion (28)(138). Folgende Seitenketten werden durch Wismutat oxidiert (28):



Diese Methode kann nicht empfohlen werden, da die Differenzberechnungen Quelle zahlreicher Fehler sein können (28).

Nach Hydrolyse der konjugierten Steroide durch ß-Glucuronidase und Sulfatase werden die Corticosteroide mit geeigneten Lösungen extrahiert, wie oben beschrieben wurde. Diese Mischung von Corticosteroiden kann auch durch Gaschromatographie analysiert werden (28). Diese Methode erfordert aber zunächst eine Trennung der verschiedenen Bestandteile durch andere chromatographische Verfahren. Viele Autoren bereiten die Steroide zu Acetaten oder Halosilylestern auf, um bessere Trennungen zu erzielen (28).

EXTRAHEPATISCHER STOFFWECHSEL DER CORTICOSTEROIDE

I - VERTEILUNG DER CORTICOSTEROIDE IM KÖRPER

Die wichtigsten Corticosteroide (Cortisol, Aldosteron, Corticosteron) werden von der Nebennierenrinde synthetisiert und freigesetzt. Im Blut werden sie von bestimmten Plasma-Eiweißen (z.B. Transcortin, Albumin) aufgenommen oder in freier, biologisch aktiver Form transportiert. Nur die freien, nicht an Plasmaproteine gebundenen Corticosteroide können durch die Gefäßwände in die Gewebszellen diffundieren, wo sie an spezifische Zellproteine (Rezeptoren) gebunden werden und anschliessend ihre Wirkung entfalten (2)(25)(80)(199)(206). Zwischen dem freien Anteil der Corticosteroide im Plasma und der ins Gewebe diffundierten Menge besteht ein Fließgleichgewicht (86).

Die Zellen der einzelnen Gewebe unterscheiden sich in ihrer Fähigkeit und Empfindlichkeit, Corticosteroide aufzunehmen und abzubauen. Außerdem variiert die Zahl der spezifischen Rezeptorproteine für Corticosteroide, was ebenfalls für die unterschiedliche Körperverteilung der Corticosteroide spricht (2)(25)(51)(80)(199).

Fazekas (71) zeigte, daß Gewebssteroide nicht nur am Stoffwechsel des Gewebes teilnehmen, sondern auch ein sogenanntes "peripheres Hormondepot" bilden. Er hat am Hund unter Normalbedingungen die qualitative und quantitative Corticosteroidverteilung in verschiedenen Geweben untersucht. Dabei konnte er verschiedene Steroidfraktionen nachweisen. Es handelt sich um Tetrahydrocortisol (THF), Tetrahydrocortison (THE), Cortisol (F), Aldosteron (ALD), Cortison (E), Tetrahydrocorticosteron (THB), Corticosteron (B), 11-Dehydrocorticosteron (A) und 11-Desoxycorticosteron (DOC).

Abbildung 11 zeigt in µg% den Gesamtsteroidgehalt der verschiedenen Gewebe. Außerdem ist aus den einzelnen Kolonnen auch der Anteil der einzelnen Corticoidfraktionen nach Rf-Werten ablesbar. Die Zahl über den Kolonnen weist auf die Anzahl der in den einzelnen Geweben gefundenen Fraktionen hin. Die Kolonnen sind nach abnehmenden Gesamtsteroidgehalt geordnet.

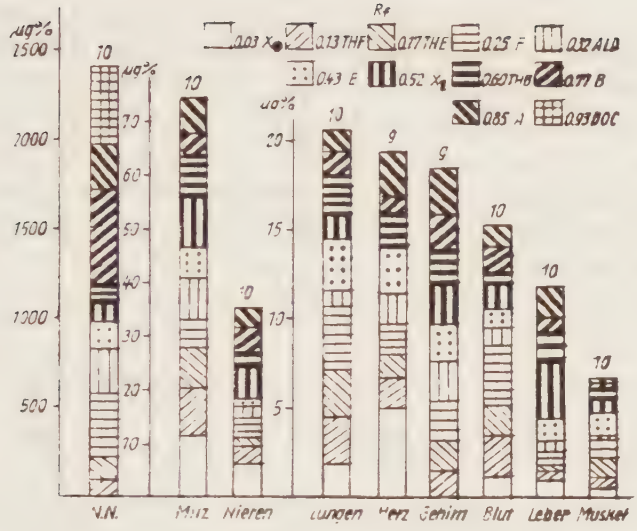


Abb. 11: Gewebssteroide des Hundes (71).

Die beiden Verbindungen mit einem Rf-Wert von 0,03 und 0,52 werden als Xo bzw. X_1-Fraktion bezeichnet. Auf Grund der positiven Tetrazolium-Reaktion besitzen diese beiden Verbindungen wahrscheinlich eine 17α-Keto-Seitenkette. Die Xo-Fraktion reagiert auch mit NaOH positiv. Dies weist auf eine Δ^4-3-Oxo-Gruppe hin. Damit wäre die Xo-Fraktion zu den sogenannten "aktiven Steroiden" zu rechnen (71).

Während Fazekas (71) in allen übrigen untersuchten Geweben je zehn verschiedene Fraktionen auffinden konnte, waren es im Herzen und im Gehirn nur neun. Die X_0-Fraktion trat in allen Geweben ausser im Gehirn und in den Nebennieren auf. In allen Geweben wurden THF-, THE-, F-, ALD-, E-, THB-, B- und A-Verbindungen gefunden. Die X_1-Fraktion war mit Ausnahme des Herzens in allen parenchymatösen Geweben vorhanden.

Die Hunde-Nebenniere produziert Cortisol, Cortison, Aldosteron, Corticosteron bzw. 11-Desoxycorticosteron und 11-Dehydrocorticosteron, sowie die Tetrahydroderivate. Diese Steroidverbindungen werden ungefähr in gleichen Mengen produziert (71).

Grössere Mengen von F und THF wurden im Blut und in der Lunge gefunden. Ebenso in grösseren Mengen traten X_0- und A-Fraktionen im Herzen, A und F im Gehirn, E und THE in der Muskulatur, X_0 und X_1 in der Milz und den Nieren sowie A und THB in der Leber auf. Diese Steroidverteilung weist auf die Möglichkeit hin, daß diese Gewebe nicht nur eine passive Hormonaufnahmefähigkeit besitzen, sondern die vom Blut aufgenommenen Steroide entsprechend der spezifischen Funktion des einzelnen Gewebes transformieren und speichern können (71). Der schnelle Übergang der Corticosteroide aus der Blutbahn in die Gewebe ist nicht allein durch den enzymatischen Abbau, sondern auch durch die Bildung eines Steroid-Rezeptor-Proteinkomplexes zu erklären (73).

II - STOFFWECHSEL IN DEN EINZELNEN GEWEBEN

Es ist bekannt, daß die Leber Hauptorgan des Abbaues der Corticosteroide ist, aber es ist wichtig, die Bedeutung anderer Organe zu untersuchen, die in diesem Prozess mitwirken.

Durch *in vitro* Versuche an einer Reihe von Geweben gelang es Burton (34) zu demonstrieren, daß die Oxidation der 11ß-Hydroxylgruppe von Cortisol durch die 11ß-Hydroxydehydrogenase in der Niere von Mäusen und Ratten am aktivsten war; Milz, Thymus und Lymphosarkomgewebe der Maus waren weniger aktiv. Die quergestreifte Muskulatur und Tumorstroma der Maus und der Ratte, sowie Ratten-Thymus zeigten niedrigere Enzym-Aktivitäten. Die 11ß-Hydroxydehydrogenase ist nicht nur in diesen Geweben vorhanden, sondern wurde auch in anderen Geweben nachgewiesen.

An ausgeweideten Ratten demonstrierten Berliner *et al* (17) den Umbau von Cortisol zu 20ß-Dihydrocortisol, 20ß-Dihydrocortison und 5-Dihydrocortisol.

Es wurde bereits erwähnt, daß Gold (95) *in vivo* Versuche an total hepatektomierten Hunden gemacht hatte. Er demonstrierte, daß diese Hunde noch imstande waren, Cortisol abzubauen. Durch Reduktion am C_{20} und Oxidation am C_{11} entstanden die Metaboliten 20ß-OH-F und 20ß-OH-E. Beide Metaboliten wurden im Urin und im Plasma in der nicht-konjugierten Form gefunden. Nach den Ergebnissen von Gold (95) fehlt hepatektomierten Hunden im Vergleich mit gesunden Hunden die Fähigkeit zur Reduktion des A-Ringes und

zur Bildung der Steroidglucuronide.

Miyabo et al (160) untersuchten den Metabolismus und die Konjugation von Cortisol bei mehreren Hundegeweben in vitro und haben ausgezeichnete Ergebnisse erzielt (s. Tab. 1).

Tabelle 1: Freie Metaboliten von [4-^{14}C]-Cortisol, die von verschiedenen Hundegeweben produziert wurden (160).

	NN	NIERE	ZWERCH-FELL	LUNGE	MILZ	DÜNN-DARM	GEHIRN	LEBER
Zahl der Tiere	5	5	5	5	3	3	3	5
Steroide								
X(2)	–	–	–	–	–	–	–	1·2±0·4
6β-OH-20β-DHF	0·2	–	–	–	–	–	–	0·8±0·3
6β-OH-20β-DHE	–	–	–	–	–	–	–	3·8±0·6
6β-OH-F	1·8±0·7	–	–	–	–	–	–	0·2±0·1
6β-OH-E	0·3±0·1	–	–	–	–	–	–	0·2±0·1
cortol-20α	–	–	–	–	–	–	–	1·6±0·7
cortol-20β	–	–	–	–	–	–	–	2·8±0·9
5α-cortol-20β	–	–	–	–	–	–	–	1·9±0·9
cortolone-20α	–	–	–	–	–	–	–	1·9±1·0
cortolone-20β	–	–	–	–	–	–	–	2·8±1·1
5α-cortolone(3)	–	–	–	–	–	–	–	1·8±1·0
20α-DHF	1·9±0·8	–	–	–	–	–	–	2·2±0·9
20β-DHF	11·5±2·5	3·7±1·3	2·4±0·5	4·9±1·0	2·7±1·4	2·1±0·4	–	4·8±1·2
THF	–	–	–	–	–	–	–	3·5±0·9
5α-THF	–	–	–	–	–	–	–	2·3±1·2
THE	–	–	–	–	–	–	–	3·2±0·7
20α-DHE	–	–	–	–	–	–	–	0·6±0·2
20β-DHE	1·9±0·9	1·8±0·2	0·5±0·1	1·0±0·3	0·4±0·2	0·5±0·2	–	1·8±0·4
F	66·9±7·6	59·1±8·2	78·8±6·5	72·5±7·7	76·7±5·2	87·5±6·9	82·8±8·1	25·3±5·1
E	9·3±1·1	23·5±3·8	12·3±5·4	16·3±1·6	14·3±4·2	6·1±2·8	17·2±5·1	24·2±3·9
11-OH-Etio	–	–	–	–	–	–	–	1·9±0·6
11-OH-Andro	–	–	–	–	–	–	–	1·1±0·2
11-OH-ADien	5·2±1·8	9·6±3·0	4·7±1·9	4·5±2·6	4·7±1·8	2·9±1·1	–	5·8±1·3
11-oxo-Etio	–	–	–	–	–	–	–	1·2±0·4
11-oxo-Andro	–	–	–	–	–	–	–	1·0±0·4
Adreno	1·0±0·3	2·3±0·9	1·3±0·7	0·8±0·3	1·2±0·4	1·0±0·4	–	2·1±0·6

(1) Ergebnisse sind in Prozent der totalen, freien Radioaktivität des Extraktes angegeben und für methodische Fehler korrigiert.

(2) X-Nichtidentifizierte Metaboliten.

(3) Trennung der 20α- und 20ß-Epimere wurde nicht durchgeführt.

Bei den meisten extrahepatischen Geweben stand die Oxidation von Cortisol zu Cortison im Vordergrund, gefolgt von der Oxidation der Seitenkette. Hier war die Niere am aktivsten. Cortison war das einzige Produkt des Gehirns. Die Reduktion des C_{20}-Ketons wurde an allen untersuchten Geweben mit Ausnahme des Gehirns nachgewiesen. Die Nebenniere war hier am aktivsten, wobei die Metaboliten 20α- und 20ß-Dihydrocortisol isoliert werden konnten. Die 20-reduzierten Verbindungen wurden auch aus der Nebenniere des Menschen (226)(228) und verschiedener Säugetierarten, z.B. beim Rind, Schwein (75) und Hund (23) isoliert. In den anderen Geweben konnte nur das 20ß-Isomer identifiziert werden. 20-Dihydrocortison war in minimalen Mengen vorhanden und wurde nur in der 20ß-Form gefunden. Umwandlungen zu 6ß-Hydroxycortisol und 6ß-Hydroxycortison fanden sich nur in den Nebennieren.

Die 6ß-Hydroxylation ist nicht nur auf die Nebennieren beschränkt, sondern wie Lipman et al (139) in ihren in vitro Versuchen an menschlichen Gewebsproben beobachteten, ist diese Reaktion auch in der Leber, Niere, Plazenta und der quergestreiften Muskulatur zu finden. Die Leber war am aktivsten, gefolgt von der Nebenniere; die letztgenannten Organe waren weniger aktiv.

Außerdem wurden kleine Mengen des hochpolaren 6ß-Hydroxy-20ß-Dihydrocortisols aus den Nebennieren des Hundes isoliert (160). Nach Miyabo et al (160) wurde dieser Metabolit bis jetzt nur im menschlichen Schwangerschaftsurin (52), Liquor Amnii (135) und im Urin von Patienten, mit Cushing Syndrom (53)(87) gefunden. In vivo Untersuchungen bei Cushing-Syndrom-Patienten ergaben, daß ein Teil dieses Metaboliten möglicherweise im Plasma aus 20ß-Dihydrocortisol gebildet werden kann (53)(87).

Die Leber zeigte alle oben erwähnten Reaktionen, zusätzlich die vollständige Reduktion des A-Ringes bei Cortisol, Cortison (160), sowie den 20-Dihydro-Formen (161). Sowohl 5α- als auch 5ß-Isomere der folgenden Metaboliten wurden gefunden: Cortol, Cortolon, THF und C_{19}-Metaboliten, wobei die 5ß-Isomere überwogen.

Die Radioaktivitätsverteilung der freien und konjugierten Corticosteroidfraktionen der Gewebsextraktionen zeigte, daß Glucuronidkonjugate nur in der Leber gebildet wurden, während Cortisolsulfatkonjugate auch in einer

Reihe von anderen Geweben, der Nebenniere, Niere, Zwerchfell, Lunge und Leber gebildet werden konnten (160). In Milz, Darm und Gehirn fehlte die Fähigkeit zur Sulfatkonjugation (160). Weiterhin berichteten Dao et al (43), daß das Mammakarzinom beim Menschen mehr Steroidsulfate bildete, als normales Brustdrüsengewebe. Wie bereits erwähnt, demonstrierte Gold (94)(95), daß die im A-Ring reduzierten Metaboliten Cortol, Cortolon und THF beim gesunden Hund als Glucuronidkonjugate ausgeschieden werden, während dem hepatektomierten Hund diese Fähigkeit fehlt. Diesen Befund bestätigten Untersuchungen von Miyabo et al (160).

Den Ergebnissen von Gold (94)(95) und Miyabo et al (160) widersprechen die Untersuchungen von Stevens, Berliner & Dougherty (214): An der Mausniere konnten sie die Konjugation der Tetrahydroderivate des Corticosterons mit Glucuronsäure unter Zusatz von TPNH und Glucose 6-Phosphat demonstrieren. Zudem beobachteten sie, daß die Niere zwar, verglichen mit der Leber, wenig A-Ring-Reduktionsaktivität besitzt, aber im gleichen Ausmaß wie die Leber Steroide mit Glucuronsäure konjugieren kann. Die Niere nahm dadurch eine Sonderstellung ein, daß nur Tetrahydroformen konjugiert wurden. Neben den C_{21}-Tetrahydroverbindungen können auch C_{19}-Steroide (Etiocholanolon, Androsteron) durch die Niere konjugiert werden, wie Cohn et al (40) zeigen konnten.

Mahesh & Ulrich (143)(144) führten an Gehirn, Zwerchfell, Herz, Niere, Kolon, Dünndarm, Beinmuskulatur, Magen und Thymus von Ratten ähnliche in vitro Untersuchungen durch. Die Niere zeigte die höchste Aktivität in der Metabolisierung von Cortisol und Cortison. Die Oxidation am C_{11} und die Reduktion am C_{20} waren die wichtigsten Umbauvorgänge in der Niere. Die anderen untersuchten Gewebe zeigten nur wenig Stoffwechselaktivität: Reduktion an der C_{20}-Ketogruppe und Oxidation am C_{11} konnten nicht oder nur in geringem Umfang nachgewiesen werden, ebenso fehlten A-Ring-reduzierte sowie C_{19}-Metaboliten. Mahesh & Ulrich (144) beobachteten zudem, daß der Zusatz von TPN oder TPNH den Cortisol Stoffwechsel in der Niere beschleunigte. An anderen Geweben war dieser Effekt nicht nachzuweisen (143). Es zeigte sich, daß TPNH ein wichtiger Kofaktor für die Reduktion des A-Ringes (220)(222) und des C_{20}-Ketons (46) vieler Steroide ist.

Nach Mahesh & Ulrich (143)(144) sind die für die Reduktion am C_{20} des

Cortisons verantwortlichen Enzymsysteme in der Rattenniere gleichmäßig zwischen dem Zellkern und den Mikrosomen verteilt, während der Umfang der Oxidation am C_{11} von Cortisol im Zellkern doppelt so groß war wie in den Mikrosomen. Die Kernmembran ist die für die Stoffwechselaktivität der nukleären Fraktion verantwortliche Struktur (143)(144). Nach elektronenmikroskopischen Studien an Leber- und Pankreasmikrosomen vertraten Palade & Siekewitz (176)(177) die Ansicht, daß die Mikrosomen dem endoplasmatischen Retikulum entstammen. Da sich das endoplasmatische Retikulum fast kontinuierlich zwischen der Kern- und Zellmembran ausdehnt (175), überrascht es nicht, daß die Mikrosomen und der Kernmembran die größte Enzymaktivität im Metabolismus von Cortisol und Cortison besitzen. Dagegen zeigten die Mitochondrien und der Überstand verhältnismäßig wenig Aktivität.

An Niere, Prostata, Schilddrüse, quergestreifter Muskulatur und Synovialgewebe des Menschen demonstrierte Jenkins (120) in vitro den extrahepatischen Stoffwechsel von Cortisol. Seine Ergebnisse sind in Tabelle 2 (120) dargestellt.

Tabelle 2: Steroide die nach der Inkubation von menschlichen Gewebsproben mit [4-^{14}C] Cortisol produziert wurden (zurückgewonnene Radioaktivität in %) (120).

Produzierte Steroide	Niere (6)	Prostata (2)	Schilddrüse (2)	Muskel (2)	Synovialmembran (2)
6ß-Hydroxycortisol	0,2	---	---	---	---
20-Dihydrocortisol	4,4(ß)	1,7	0,6	0,7	0,9
20-Dihydrocortison	11,3	6,3	0,8	0,6	
Cortison	65,8	24,4	3,3	2,9	1,1
11ß-Hydroxyandrostenedion	0,3	0,4	---	---	---
Androstenetrion	0,7	1,1	---	---	---
Cortisol, unverändert	17,3	66,0	95,3	95,8	98,0
Total zurückgewonnene Menge(%)	78,5	77,6	67,6	68,0	70,5

(Zahl der Untersuchungen in Klammern)
Resultate in Durchschnittswerten angegeben.

Sie zeigen, daß Cortisol in vitro von mehreren Gewebsarten metabolisiert wurde, wobei die Niere am aktivsten erschien, gefolgt von der Prostata. Die anderen Geweben waren in der Metabolisierung von Cortisol weniger effektiv. Mahesh & Ulrich (144) berichteten, wie schon erwähnt, daß in der Rattenniere die Oxidation von Cortisol zu Cortison Hauptreaktionsweg ist, was auch an Untersuchungen an menschlichen Geweben bestätigt werden konnte (120). In der Rinderniere ist die Reduktion am C_{20} ein weitaus wichtigerer Reaktionsweg, wie Ganis et al (84) demonstrieren konnten. Nach Ansicht von Jenkins (120) variiert die Aktivität der renalen 11ß-OH-Dehydrogenase von Tier zu Tier.

Neben der Oxidation der 11-Hydroxylgruppe war auch die Reduktion des C_{20}-Ketons in allen Geweben nachweisbar (s. Tab. 2) (120). In den Nierenproben wurde nur das 20ß-Epimer gefunden, was mit Untersuchungen an anderen Spezies von Ganis et al (84) übereinstimmt. Andere Metaboliten waren nur in kleinen Mengen vorhanden. Das hochpolare 6ß-OH-Cortisol, wurde zwar auch in der Niere gefunden, wird in größeren Mengen jedoch nur von den Nebennieren und der Leber produziert [Lipman et al (139), Jenkins (119)].

Auch der Beweis für die Oxidation der Seitenkette des Cortisols konnte erbracht werden (s. Tab. 2). Niere und Prostata des Menschen konnten kleine Mengen von 11ß-OHA und Androstenetrion (Adrenosteron) produzieren. Ähnliche Ergebnisse berichteten Ganis et al (84), welche die Produktion von C_{19}-Steroiden in Rindernieren beobachteten.

Bei bestimmten Tierspezies, z.B. beim Meerschweinchen wird in der Niere in großem Ausmaß Cortison zu Cortisol reduziert, die Umkehrung der oben beschriebenen Reaktion. Jenkins (120) zeigte, daß diese Reaktion beim Menschen zwar hauptsächlich in der Leber, in der Niere jedoch nur in geringem Umfang möglich ist (s. Tab. 3). Da andere Gewebe diesbezüglich von ihm nicht untersucht wurden, konnte nicht ausgeschlossen werden, daß dieser Reaktionsweg auch außerhalb der Leber und Niere möglich ist.

Tabelle 3: Steroidverteilung nach der Inkubation von Nieren- und Leberproben mit 4-^{14}C Cortison (zurückgewonnene Radioaktivität in % (120).

Produzierte Steroide	Leber (3)	Niere (3)
20-Dihydrocortisol	12,8	----
20-Dihydrocortison	19,9	12,1
Cortisol	47,1	0,9
Cortison unverändert	20,2	87,0
Total zurückgewonnene Menge (%)	67,0	66,0

(Zahl der Untersuchungen in Klammern)

In einem in vivo Versuch injizierte Jenkins (120) Cortisol in die A. brachialis. In 10-Minuten-Intervallen wurde venöses Blut aus der gleichseitigen Armvene entnommen und auf im Unterarmgewebe entstandene Cortisolmetaboliten untersucht. Er fand kleine Mengen von Verbindungen, die bei den Chromatogrammen dieselben Positionen besetzten wie Cortison und 20-Dihydrocortisol. Diese Verbindungen waren im venösen Blut des anderen Armes nicht nachweisbar, was darauf schließen läßt, daß die genannten Verbindungen nicht in der Leber, sondern in dem betreffenden Unterarmgewebe entstanden sind. Asmal et al (5) fanden bei ihren Untersuchungen über den Metabolismus von Cortisol im menschlichen Unterarmgewebe ebenfalls kleine Mengen einer in ihrem chromatographischen Verhalten dem Cortison ähnlichen Substanz.

Jenkins (120) erkannte die wichtige Stellung der Niere im Cortisolstoffwechsel. Die Oxidation zu Cortison war die wichtigste Reaktion bei allen fünf Geweben (Niere, Prostata, Schilddrüse, Muskel, Synovialmembran). Es ist außerdem bekannt, daß normalerweise der größte Teil der Cortisolmetaboliten im Urin als 11-Oxo-Tetrahydroderivate auftreten (120). Die Niere zeigte die höchste Stoffwechselaktivität aller dieser untersuchten Gewebe, A-Ring reduzierten Substanzen konnten aber in der Niere nicht nachgewiesen werden. Nach Jenkins (120) ist dieser Reaktionsweg nur in der Leber lokalisiert.

Travis & Sayers (229) beschrieben die Entstehung von 20ß-OH-F nach Perfusion eines Herz-Lungen-Präparates des Hundes mit Cortisol-4-C^{14}.

Sweat et al (219) haben die Reduktion von Cortisol am C_{20} durch menschliche Fibroblastenkulturen nachgewiesen.

Im Folgenden sollen die Organe einzeln unter dem Gesichtspunkt ihres Corticosteroidstoffwechsels beschrieben werden.

II - 1) AUGE

Das Auge besteht aus einer Vielzahl verschiedener Gewebsanteile, die sich in Struktur und Funktion erheblich unterscheiden. Diese Vielfalt spiegelt sich im Corticosteroidstoffwechsel wieder.

Southren et al (211) inkubierten Iris und Ziliarkörper des Hasenauges mit ^{3}H-Cortisol (vgl. Tab. 4). Dabei entstanden durch Oxidation mit NADP als Kofaktor ca. 40% Cortison. Wurde dagegen Cornea inkubiert, so entstand Cortison nur zu 6%. Zusätzlich waren jeweils kleine Mengen von C_{19}-Steroiden, sowie nichtidentifizierte Metaboliten vorhanden. Auffallend war das Fehlen A-Ring-reduzierter Cortisolmetaboliten infolge Fehlens der Cortisol A-Ring Reduktase.

Tabelle 4: Stoffwechsel der Steroidhormone in Iris-Ziliarkörper und Cornea des Hasen (211).

		Zurückgewonnene Steroide (%)						
Substrat	Gewebe	Cortisol	Cortison	11-OH-Androstenedion	Adrenosteron	DHF und THF	DHE und THE	Nichtidentifiziert
Cortisol§	Keine +	92,0	Spur++	3,6	Spur			3,5††
(n=5)+	Iris-Ziliarkörper	52,0	39,8	2,8	1,9			4,5††
(n=4)	Cornea	88,0	6,1	3,6	Spur			1,4††
Cortison§	Keine	Spur	91,0	Spur	6,8			1,4††
(n=3)	Iris-Ziliarkörper	17,2	68,7	1,2	7,2	Spur?	2,5	2,8††
(n=2)	Cornea	5,0	81,2	Spur	6,2		2,0	2,0††
		Corticosteron	Dehydrocorticosteron	Nichtidentifiziert				
Corticosteron*	Keine	96,3	Spur	3,1††				
(n=2)	Iris-Ziliarkörper	81,0	9,7	8,9††				

+n = Zahl der durchgeführten Untersuchungen.
Keine= Parallel mit n Gewebsuntersuchungen.
++Spur = weniger als 1%.
†† Nichtidentifizierte radioaktive Verbindungen, die am Ursprung des Chromatogramms gewonnen wurden.
§ Chloroform:Aceton (7:3 v/v).
* Chloroform: Ethylacetat (85:15 v/v).

Tabelle 5: Notwendige Kofaktoren für den Stoffwechsel von Steroid Hormonen (211).

Substrat	Kofaktor	Produziertes Steroid (%) Cortison	
		Iris-Ziliar-körper	Cornea
Cortisol (n=2)+	Keine	15,1	3,0
	NADP	38,6	6,4
	NADPH	16,8	3,1
	NAD	17,2	2,9
	NADH	14,9	3,0
		Cortisol	
Cortison (n=2)	Keine	5,1	2,0
	NADP	9,2	2,9
	NADPH	17,0	5,2
	NAD	6,7	2,4
	NADH	5,4	2,3

+n = Zahl der durchgeführten Untersuchungen.

Wurde Cortison als Substrat eingesetzt, so entstanden in Iris-Ziliarkörper und Cornea 17% bzw. 5% Cortisol (Tab. 4). Kofaktoren dieser Reduktionsreaktion ist NADPH (Tab. 5).

Die Ergebnisse dieser Untersuchungen von Southren et al (211) zeigen, daß Iris-Ziliarkörper und Cornea ein aktives 11ß-Hydroxydehydrogenase-System mit NADP bzw. NADPH als Kofaktoren besitzen, wodurch Cortisol und Cortison reversibel verändert werden können. Aus der Tatsache, daß lediglich Cortison im A-Ring reduziert werden konnte, läßt sich auf eine mögliche Substratspezifität der A-Ring-Reduktasen schließen.

Wie Tab. 4 zeigt, können durch das 11ß-Hydroxydehydrogenase-System in Iris-Ziliarkörper auch andere C_{21}-11ß-Hydroxysteroide verändert werden: So wird z.B. Corticosteron zu 11-Dehydrocorticosteron oxidiert.

Auch der Corticosteroidstoffwechsel der Linse wurde untersucht. Sie kann freie Corticosteroide aufnehmen und an spezifische Rezeptoren binden (ß-Crystallin). Nach speziellen Untersuchungen mit Cortisol bezeichneten Ono et al (171)(173) dieses Protein als "cortisol-binding-crystallin".

Durch Inkubation von Rinder-, Schweine- und Rattenlinsen mit markiertem Cortisol konnten obengenannte Autoren (170) nachweisen, daß in der Linse

Cortisol durch Abspaltung der 17,21-Dihydroxy-20-Keton-Seitenkette oxidiert werden kann. Die Steigerung der Reaktionsrate nach Zugabe von NAD (Abb. 12) unterstreicht die Bedeutung der Pyridinnucleotide als Kofaktoren dieser Abspaltungsreaktion.

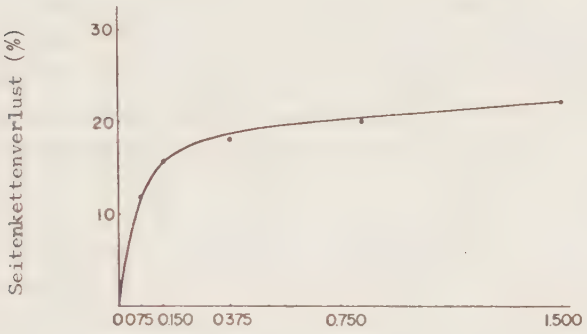


Abb. 12: Effekt der Zugabe von Nicotinamid-Adenin-Dinucleotid. Reaktionsmischung enthält im Endvolumen von 5 ml 150 mg Rinderlinsen, homogenisiert in 0,15 M Kaliumchlorid, 200 µM Kalium Phosphat Puffer (pH 7,4), 100 µg Cortisol und angegebene Mengen von NAD. Die Reaktionen wurden für 150 Minuten unter anaeroben Bedingungen bei 37°C durchgeführt. Seitenkettenverlust in % des zugesetzten Cortisols (170).

Ono et al (170) konnten in ihren Versuchen folgende Substanzen nachweisen: Corticosteron, Cortison, 11ß, 17α , 20ß-21-Tetrahydroxy-pregn-4-ene-3-one (Reichstein Substanz E) und durch eine hohe C_{17}-20-Lyase Aktivität produziertes 11ß-Hydroxyandrost-4-ene-3,17-dion. Außer einem 17-Ketosteroid, entstanden durch Umwandlung von Cortisol, eine Reihe anderer Produkte, welche die Existenz weiterer Enzymsysteme in der Linse vermuten läßt.

Die Bildung von Sulfaten und Glucuroniden als wichtigen Endschritt im Corticosteroidmetabolismus demonstrierten als Erste Ono, Hirano & Obara (172)

durch Studien an Linsen des Menschen, Rindes, Hasen und der Ratte, sowie katarakterkrankten Linsen.

Die Ergebnisse der Inkubation mit 4-^{14}C-Cortisol verdeutlicht Tab. 6:

Tabelle 6: Sulfat- und Glucuronidkonjugation von Cortisol in Menschen-, Rinder-, Hasen-, Ratten- und katarakterkrankten Linsen (172).

	Zahl der Fälle	Konjugation	
		Sulfat, %	Glucuronid, %
Menschenlinse	2	1,20	4,45
Rinderlinse	4	0,65	3,78
Hasenlinse	4	0,34	3,80
Rattenlinse	4	0,35	2,19
Katarakterkrankte Linse	3	0,72	4,79

Die Sulfat- und Glucuronidkonjugation von Cortisol zeigt große Unterschiede zwischen den einzelnen Spezies. Eine hohe Rate an Sulfatkonjugation zeigten Menschen- und Rinderlinse, eine deutlich niedrigere die Hasen- und Rattenlinse. Auch bei der Glucuronidkonjugation zeigte die Menschenlinse die höchste Aktivität, ausgesprochen gering war sie bei der Rattenlinse.

Zusammenfassend läßt sich sagen, daß die Konjugationsaktivität mit beiden Substraten in der Menschenlinse am höchsten war. Die übrigen Angaben unterstreichen die ausgeprägte Variabilität des Corticosteroidstoffwechsels zwischen den einzelnen Spezies.

Während das Ausmaß der Glucuronidkonjugation bei katarakterkrankten Linsen dem gesunder Linsen entsprach, war die Sulfatkonjugation deutlich geringer ausgeprägt, was auf eine Änderung der biochemischen Zusammensetzung der Linse, vor allem ihrer Proteine zurückzuführen ist.

Es gibt Hinweise dafür, daß auch die Retina am Corticosteroidstoffwechsel teilnimmt (129)(174)(191). Ono, Hirano & Obara (174) stellten in vitro Versuche mit Rinder- und Hasen-Retina an und fanden, daß die Retina Corticosteroide aufnehmen und an spezifische, makromolekulare Steroid-Rezeptorproteine binden kann. Ähnliche Versuche führten Reif-Lehrer (191),

Koehler & Moscona (129) an der Retina von Hühnerembryonen durch. Näheres über den Corticosteroidstoffwechsel in der Retina ist nicht bekannt.

II - 2) HAUT

Seit langem spielen Corticosteroide in der Dermatologie eine bedeutende therapeutische Rolle. Ihr heilender Effekt bei zahlreichen Hauterkrankungen beruht auf einem direkten Eingriff in den Zellstoffwechsel. So ist es verständlich, daß die Haut Gegenstand zahlreicher Untersuchungen unter dem Gesichtspunkt ihres Corticosteroidstoffwechsels ist.

Als Erste beobachteten Malkinson & Ferguson (146), daß nach Applikation von Cortisolsalbe ein Depot von Hydrocortison in der Haut verbleiben kann. Zur selben Zeit zeigten Corticosteroidsalben die ersten Erfolge in der Behandlung von Hautkrankheiten. Die Absorption von Hydrocortison durch die Haut wurde durch den Nachweis von radioaktiven Metaboliten im Urin bewiesen (146).

Die menschliche Haut ist nicht nur Corticosteroiddepot, sondern erfüllt auch eine wichtige Funktion in der Biosynthese, und im Metabolismus der Corticosteroide (22). Sie enthält eine verhältnismäßig große Menge an Enzymen und erfüllt die Kriterien eines endokrinen Organs (22).

In den Talgdrüsen der oberen Rückenhaut des Menschen, nicht jedoch an den Unterarmen und Beinen, fanden Baillie et al (11) hohe Aktivität der 3α-, 3ß-, 16ß- und 17ß-Hydroxysteroiddehydrogenasen. Talgdrüsen im Bereich Akne vulgaris befallener Hautpartien zeigten hohe Aktivitäten der 3ß- und 16ß-Hydroxysteroiddehydrogenasen, eine niedrige Aktivität der 3α-, 11ß- und 17ß-Hydroxydehydrogenasen und minimale Aktivitäten der 6ß- und 20-Hydroxysteroiddehydrogenasen.

Malkinson et al (147) stellten bei Versuchen mit Cortisol, Cortison als dessen Hauptmetaboliten fest. Umgekehrt war Cortisol das Hauptprodukt bei Cortisoninkubationen. Wie Malkinson et al (146)(147) weiter beschreiben, wird Cortison weitaus schneller metabolisiert als Cortisol. Dies kann möglicherweise Ursache der im Vergleich mit Cortison besseren therapeutischen Wirksamkeit des Cortisols sein. Ort dieser Transformations-

prozesse ist das Korium.

Hsia et al (110-113) führten mehrere Inkubationen von Epidermis und Korium mit Hydrocortison (Cortisol) 4-^{14}C durch, wobei sie verschiedene Metaboliten fanden. Abdominale Hautproben mehrere Stunden alter Leichen zeigten keinerlei metabolische Aktivität mehr (112). Dies könnte durch den Untergang der Enzyme oder ein Verschwinden der Kofaktoren, oder die Kombination beider Mechanismen erklärt werden. Obengenannte Autoren demonstrierten an Leichenhaut die Reaktivierung des Corticosteroidmetabolismus durch Zugabe von TPNH, ein Pyridinnucleotid (s. Abb. 13, A,B) (112).

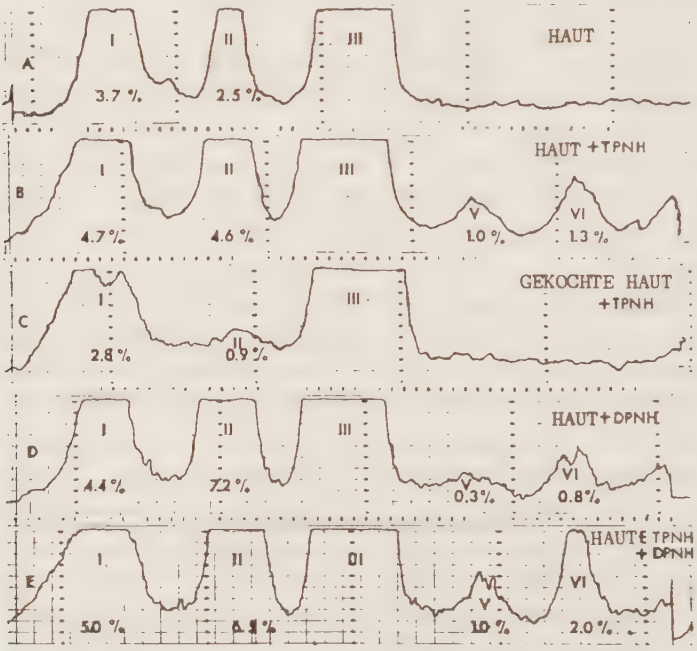


Abb. 13: Verteilung von ^{14}C in den Papierchromatogrammen nach der Inkubation von totem Hautgewebe in Hydrocortison-4-^{14}C (112).

A: Kein Zusatz von Koenzymen
B: Zusatz von TPNH
C: Kontrolle, Haut vor Inkubation unter TPNH-Zusatz gekocht
D: Zusatz von DPNH
E: Zusatz von TPNH + DPNH

In Experiment C, hier wurde gekochte Haut verwendet, war trotz Anwesenheit von TPNH keine Reaktivierung des Corticosteroidmetabolismus möglich. Wahrscheinlich wurden die Enzyme durch den Kochvorgang denaturiert. Experiment D zeigt die im Vergleich zu TPNH geringere Effektivität von DPNH. Die höchste metabolische Aktivität zeigte Experiment E mit gleichzeitigem Zusatz von DPNH + TPNH.

Diese Experimente zeigten, daß TPNH und DPNH nach dem Tod aus der Haut verschwinden. Die Ursache des Verlustes ist möglicherweise die Zerstörung der Kofaktoren durch spezifische Enzyme (DPNasen und Nucleotid Pyrophosphatasen) oder die Erschöpfung der Redox-Enzymsysteme infolge Ausfalls der Regenerationssysteme. Zusammengefaßt, diese Experimente unterstreichen die wichtige Rolle von TPNH und DPNH als Wasserstoffdonatoren des Corticosteroidstoffwechsels in der Haut.

Die Abb. 14 und 15 zeigen die Ergebnisse von Untersuchungen, in denen Epidermis und Korium getrennt inkubiert wurden. Bezogen auf die Gewichtseinheit war die Epidermis aktiver als das Korium (vgl. Peak VI). Da das Korium jedoch einen größeren Anteil der Haut einnimmt, ist dem Korium doch die wichtigere Rolle im Corticosteroidstoffwechsel der Haut zuzuordnen.

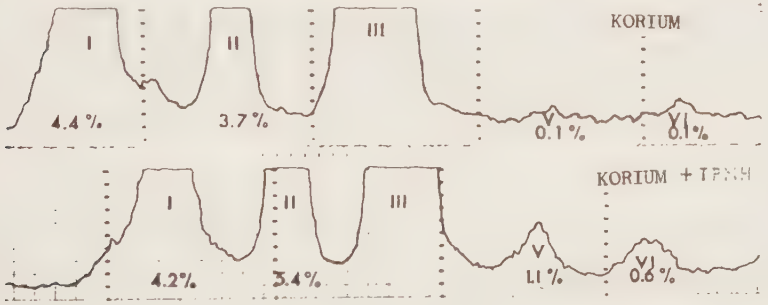


Abb. 14: Chromatogramme nach der Inkubation von Korium mit Hydrocortison-4-^{14}C. Oberes Chromatogramm: Kein Zusatz von Koenzymen. Unteres Chromatogramm: Zusatz von TPNH steigert die Metabolisierungsrate.

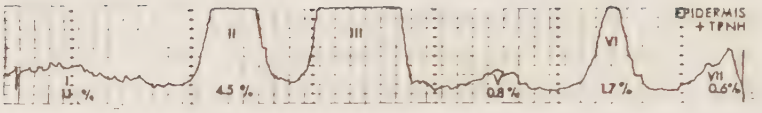


Abb. 15: Chromatogramm nach der Inkubation von Epidermis mit Hydrocortison-4-^{14}C unter Zusatz von TPNH (112).

Aus Abb. 16 ist zu erkennen, daß auch die Haut der Fußsohle Cortisol metabolisieren kann, obwohl hier weder Talgdrüsen noch Haarfollikel vorhanden sind. Daraus schließt man, daß die Fähigkeit der Haut, Cortisol zu metabolisieren, nicht an die Anwesenheit dieser Hautanhangsgebilde gebunden ist.

Abb. 16: Chromatogramm, nach der Inkubation eines Gewebsstückes der Fußsohle mit Hydrocortison-4-^{14}C unter Zusatz von TPNH (112).

Erläuterungen zu den Abbildungen 13-16: Der hauptsächlichste Metabolit war das Oxidationsprodukt Cortison (Peak II). Alle anderen Metaboliten waren Reduktionsprodukte. Die C_{20}-Reduktionsprodukte sind in Peak VI (Reichstein Substanz E und epi-E) und Peak V (Reichstein Substanz U und epi-U) repräsentiert.

Nach Inkubation von Hautproben aus verschiedenen Körperregionen untersuchten Hsia & Hao (113) die Corticosteroidverteilung. Abb. 17 zeigt das chromatographische Resultat der Inkubation von menschlicher Vorhaut mit Cortisol-4-^{14}C. Deutlich sind sieben Peaks zu erkennen, wobei Peak I zerfallene Cortisolmetaboliten und verunreinigte Referenzsteroide enthält; Peak II entspricht Cortison (E), Peak III entspricht Cortisol (F), und Peak V dem Tetrahydrocortisol (THF). Tetrahydrocortison (THE) liegt chromatographisch zwischen Peak III und IV. Peak VI stellt einen Metaboliten dar, der hydrophiler als THF erscheint. Die Bedeutung von Peak VII ist ungeklärt. In Chromatogrammen nach Untersuchungen an Hautproben anderer Körperregionen wie Hüfte, Arm, Hals, Bauchwand und Fußsohle (s. Abb. 13-16) fehlte Peak IV, während die übrige Verteilung der in Abb. 17 gezeigten entsprach.

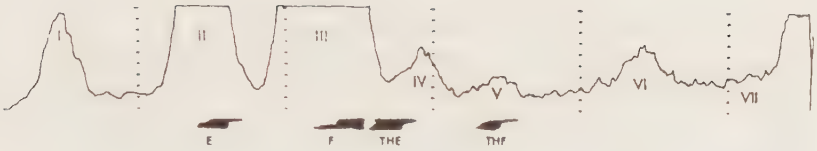


Abb. 17: Chromatographisches Verhalten der radioaktiv markierten Metaboliten nach der Inkubation menschlicher Vorhaut mit Cortisol-4-^{14}C. Markierung durch vier Referenzsteroide: Cortison (E), Cortisol (F), Tetrahydrocortison (THE) und Tetrahydrocortisol (THF). Die Verteilung des ^{14}C wurde durch einen Autoscanner registriert. Die Referenzsteroide wurden mit Tetrazolium-Blau identifiziert (113).

Die ^{14}C-Aktivität in Peak II entspricht zu etwa 50,6% dem Cortison, zu 46% Allodihydrocortisol. In einem anderen Versuch, bei dem Bauchhaut inkubiert wurde, entsprachen 73% der vorhandenen ^{14}C-Aktivität dem Cortison. Allodihydrocortisol konnte nur in der Vorhaut, nicht in anderen Hautarealen nachgewiesen werden.

Zwar ist das 5ß-Isomer Dihydrocortisol entsprechend seiner chromatographischen Mobilität dem Peak II zuzuordnen, aber trotz wiederholter Versuche (113) mit Hautproben verschiedener Hautareale konnte es dort nicht nachgewiesen werden.

Allotetrahydrocortisol wird durch Peak IV erfaßt. Es repräsentiert etwa 78% der ^{14}C-Aktivität in Peak IV.

Tetrahydrocortisol entspricht in seiner chromatographischen Mobilität dem Peak V, war dort aber nicht nachweisbar.

Die Reichstein Substanzen E und epi-E wurden in Peak VI identifiziert. 70% der Radioaktivität entsprachen Reichstein Substanz E, 26% der Reichstein Substanz epi-E.

Die 11-Keto-Homologe, die Reichstein Substanzen U und epi-U fanden sich in Peak V. 26% des ^{14}C konnten Substanz U, 14% der Substanz epi-E zugeordnet werden.

In Abb. 18 sind die Cortisolmetaboliten, die Hsia et al (22)(111)(112) (113) in der Haut fanden, schematisch dargestellt.

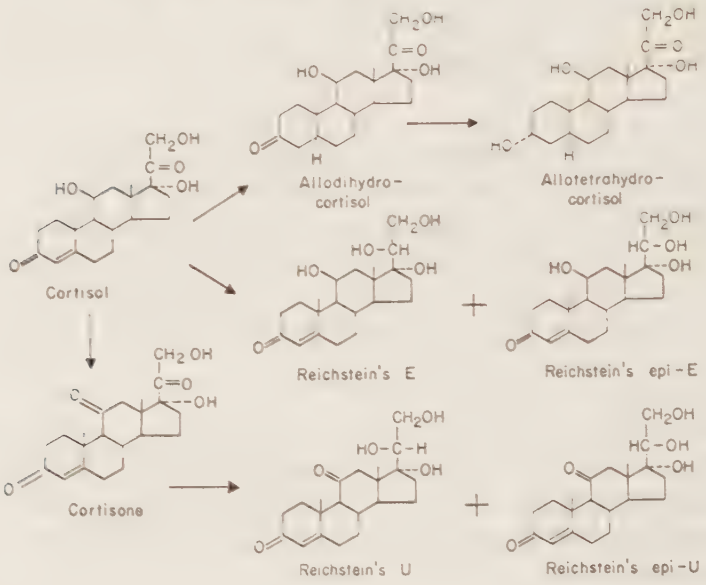


Abb. 18: Der Stoffwechsel von Cortisol in der menschlichen Haut. Die Bildung von Allodihydrocortisol und Allotetrahydrocortisol wurde nur in der Vorhaut nachgewiesen. Oxidation der 11ß-ol und Reduktion des 20-on fand sich in allen untersuchten Hautproben (113).

In einer anderen Versuchsreihe inkubierten Hsia & Hao (114) menschliche Bauchhaut und Vorhaut, jedoch mit Cortison-4-^{14}C statt Cortisol. Dabei fanden sie dieselben Metaboliten wie bei den Cortisolinkubationen (113). Der Zusatz von NADPH steigerte die Mengen der Metaboliten. NADH war weniger effektiv, NAD und NADP zeigten noch geringere oder überhaupt keine Wirkung, vgl. Abb. 19. Dieses Ergebnis entspricht den schon früher erwähnten Untersuchungen von Hsia et al (112).

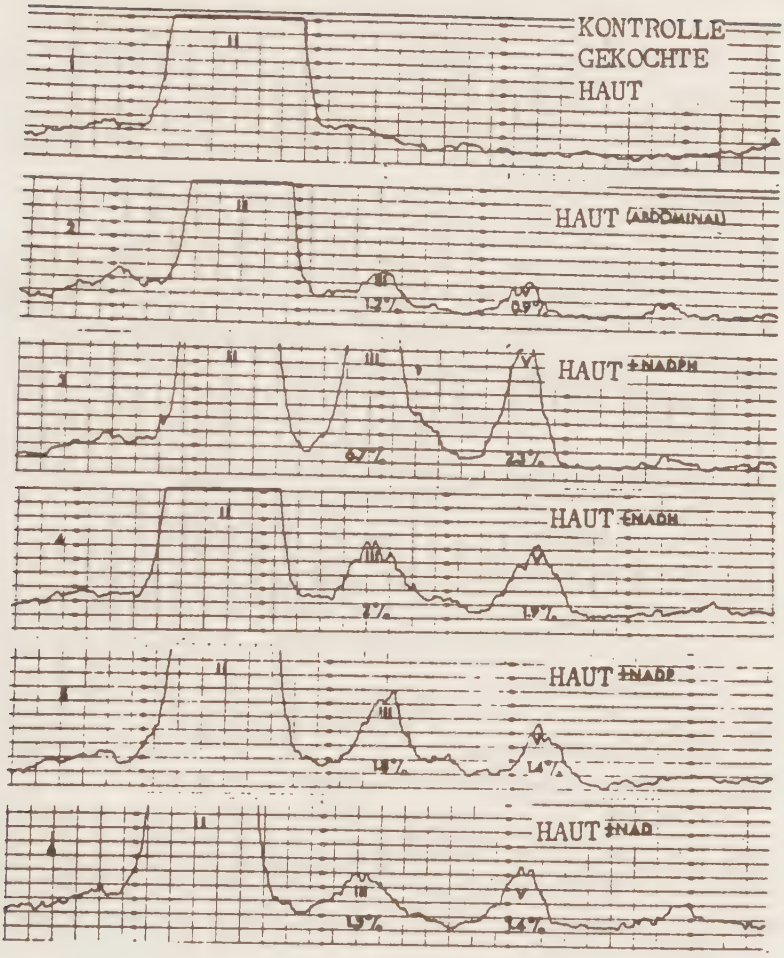


Abb. 19: Verteilung von ^{14}C in den Papierchromatogrammen nach der Inkubation menschlicher Bauchhaut mit Cortison-4-^{14}C. Die Prozentzahl unter jedem Peak gibt den Anteil des Peaks an der Gesamtaktivität von ^{14}C im Chromatogramm an (114).

Zusammengefaßt zeigten Hsia et al (110-114), daß die Oxidation des 11ß-ol und die Reduktion des 20-on die Hauptwege des Cortisolmetabolismus in der menschlichen Haut sind. Ein dritter Weg, der zu Allodihydro- und Allotetrahydrocortisol führt, scheint auf die Vorhaut beschränkt zu sein (96). Außerdem zeigten sie, daß die Umkehrung dieser Reaktion, die Oxidation des Cortisols zum Cortison auch in der Haut möglich ist (114). Die für diese Redox-Reaktionen verantwortlichen Enzyme sind offenbar eng mit den Pyridin-Nucleotiden als Kofaktoren verknüpft.

Greaves (98) ging einen Schritt weiter, indem er seine Versuche in vivo durchführte. Cortisol-1,2-^{3}H wurde auf Bauch-, Stirn- und Skrotalhaut aufgetragen und der weitere Stoffwechselweg dem oral verabreichten Cortisols verglichen. Die im Urin gefundenen Metaboliten wurden qualitativ und quantitativ erfaßt (s. Tab. 7 & 8).

Die in einem bestimmten Zeitraum in die Haut eingedrungene Cortisolmenge war in den einzelnen Hautarealen sehr unterschiedlich: Während in den ersten 12 Stunden 17% der auf die Skrotalhaut aufgetragenen Menge im Urin ausgeschieden wurde, wurde nur 1% des auf die Bauchhaut aufgetragenen Quantums ausgeschieden. Wie Tab. 7 zeigt, kann Cortisol Bauch-, Stirn- und Skrotalhaut in zunehmender Geschwindigkeit passieren.

Sicher beeinflussen die unterschiedliche Dicke, sowie die unterschiedliche Verteilung und Zusammensetzung der einzelnen Schichten der untersuchten Areale das Penetrationsvermögen aufgetragener Substanzen.

Wie aus Tab. 8 zu erkennen ist, waren 17-oxo-Steroide die Hauptmetaboliten perkutan verabreichten Cortisols, während die 17-Hydroxy-Corticosteroide Hauptmetaboliten nach oraler Verabreichung sind. Diese Beobachtung beweist den in vivo Abbau von Cortisol durch die Zellen der Haut. Gerade bei der Bauchhaut ist dieser Prozess sehr ausgeprägt.

Greaves (98) ist der Ansicht, daß auf die Haut aufgetragenes Cortisol seine Seitenkette verliert, bevor es seinen Wirkungsort in der Zelle erreicht.

Tabelle 7: Dosierungen und Träger, ihre Verabreichungswege, der Prozentsatz von Tritium im 12 Stunden Urin und die Verteilung von Tritium zwischen polaren und nichtpolaren Metaboliten in den freien und den Glucuronidfraktionen (98).

Versuche	Geschlecht	Ort	Dosis $_3$ µCi H^3F	Träger	% der ausgeschiedenen Dosis	% der Gesamtausscheidung		Frei B5 Chromatogramm		Glucuronid B5 Chromatogramm	
						Freie	Glucuronide	% Polar	% Nichtpolar	% Polar	% Nichtpolar
11	M	Oral	6,50	0,5 ml Ethanol und 20 ml H_2O	56,89	3,78	66,94	96	4	92	6
13	M	"	1,09	"	67,82	69,15		—	-	91	5
14	F	"	2,16	"	74,43	3,36	71,48	95	5	92	8
12	F	"	1,09	"	80,99	77,85		—	-	81	11
15	F	Abdomen	48,14	Salbe[1]	0,23	2,60	59,57	—	-	29	71
7	F	"	46,88	"	0,26	1,64	72,81	—	-	14	76
			+3,9 mg Cortisol								
6	F	"	46,88	"							
1	F	"	23,00	DMSO[2]	0,30	3,79	72,23	62	38	32	66
2	M	"	21,50	"	0,443	2,22	66,14	64	36	19	77
3	F	Stirn	41,40	Salbe[1]	0,463	1,65	58,98	74	26	27	67
5	M	"	41,40	"	0,53	3,87	57,90	86	14	63	34
8	M	"	67,35[4]	"	4,80	4,53	65,25	96	4	79	18
4	M	Skrotum	41,40	"	13,74	3,52	50,96	94	6	64	34
					17,34	5,10	60,01	91	9	88	9

1 - 1,2-^{3}H Cortisol wurde einem erweichenden Mittel von 0,5 g Boots'E45 dermatologischer Salbe beigemischt.
2 - Dimethyl Sulfoxid.
3 - % der ausgeschiedenen Dosis in 24 Stunden.
4 - 1,2-^{3}H Cortison.

Tabelle 8: Verteilung der Metaboliten in den Glucuronidextrakten in Prozent der Gesamtausscheidung, Quotient 11-Hydroxy/11-oxy-17-oxo-Steroide (98).

Prozentuelle Ausscheidung von Tritium in den einzelnen Glucuronidfraktionen									11-Hydroxy-17-oxosteroide* 11-oxy-17-oxosteroide**
Versuchszahl	Applikationsform	Cortol	Cortolon	THF	Allo THF	THE	11-OH-* 17-oxosteroids	11-oxy-** 17-oxosteroids	
11	Oral	3,3	10,8	20,7	12,6	35,4	3,5	1,8	1,9
13	"	4,4	11,7	17,1	12,2	37,7	—	—	—
14	"	2,6	12,0	14,6	10,9	47,1	2,3	2,8	0,8
12	"	3,7	13,4	12,0	11,5	41,2	—	—	—
15	Abdomen	1,7	5,2	4,6	2,6	13,1	55,6	6,8	8,2
7	"	0,6	1,3	1.0	1,3	1,4	65,6	10,7	6,1
6	"	2,0	3,8	6,1	2,0	8,3	45,6	8,8	5,2
3	Stirn	1,2	8,7	8,4	6,3	34,0	22,3	7,9	2,8
5	"	6,4	16,1	12,3	11,7	22,9	10,2	4,5	2,3
8	"	2,8	11,7	13,3	8,1	24,3	22,8	7,6	3,0
4	Skrotum	4,0	17,9	14,2	16,6	28,8	2,8	4,8	0,6

* 11ß-Hydroxyaetiocholanolon und 11ß-Hydroxyandrosteron .
** 11-oxoaetiocholanolon .

Die Analyse der Cortisolmetaboliten nach Passage der Skrotalhaut deutet darauf hin, daß Cortisol durch die Haut möglicherweise unverändert diffundieren kann, ohne die aktiven Teile der Zellen zu berühren. Eine andere Erklärung wäre das Fehlen der für die Seitenkettenabspaltung verantwortlichen Enzyme in der Skrotalhaut.

Die Ergebnisse von Greaves lassen sich dahingehend zusammenfassen, daß sich der Stoffwechsel perkutan und oral applizierten Cortisols erheblich unterscheidet. Auch zwischen den einzelnen Hautarealen existieren beträchtliche Unterschiede.

II - 3) FETTGEWEBE

Als Erster vermutete Dubovyi (61) Steroide und Steroidmetaboliten im menschlichen Hautfett, was durch positiven Ausfall der Zimmerman-Reaktion für 17-Ketosteroide bestätigt wurde. Dasselbe Ergebnis erzielten Carrie & Ruhrmann (36). Dubovyi (62) quantifizierte mit indirekten Methoden 17-Ketosteroide, 3-Hydroxysteroide und 17-Hydroxysteroide im menschlichen Haarfett. Cook & Lorincz (42) fanden 3α-, 3ß- und 17ß-Hydroxydehydrogenasen in den Hautlipiden, wobei sich die Konzentration dieser Enzyme bei Akne-Patienten nicht von der bei normalen Patienten unterschied. Wie bereits erwähnt, fanden Baillie et al (11) vier Hydroxydehydrogenasen in den menschlichen Talgdrüsen. Nach ihren Befunden war die Aktivität einiger Dehydrogenasen im Bereich Akne-befallener Hautareale deutlich gesteigert. In späteren Untersuchungen demonstrierten Baillie et al (12) die Aktivitätsänderungen der Hydroxydehydrogenasen in Abhängigkeit vom Alter, Geschlecht und anatomischer Region.

Der extrahepatische Stoffwechsel von Cortisol im Fettgewebe war Gegenstand umfangreicher Untersuchungen von Karl et al (124):

Sie inkubierten Fettgewebe aus dem Omentum majus und der Subkutis des Menschen mit 4-^{14}C Cortisol. Durch Analyse ihrer Chromatogramme (s. Abb. 20) konnten sie folgende Verbindungen identifizieren: Cortisol, Cortison, Reichstein Substanz E (E_R) und Reichstein Substanz U (U_R). Die Radioaktivität im Extrakt nach einer Inkubationszeit von 12 Stunden war nur zu 10% dem Cortisol zuzuordnen. 45% der Radioaktivität entfielen auf Cortison, 30% auf Reichstein Substanz U, 5% auf Reichstein Substanz E.

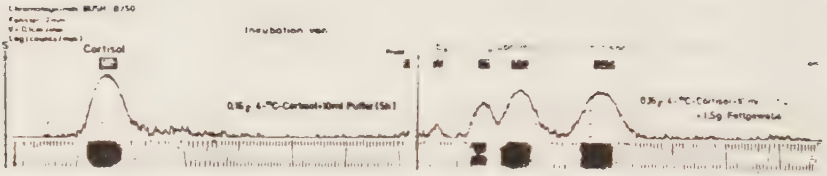


Abb. 20: Vier radioaktive Gipfeln konnten festgestellt werden (124).

Durch diese in vitro Untersuchungen führten Karl et al (124) den Nachweis, daß das menschliche Fettgewebe mindestens zwei Enzymsysteme für die Metabolisierung von Cortisol besitzt, einerseits die 11ß-Hydroxydehydrogenase, welche für die Umwandlung von Cortisol zu Cortison und die Umkehrung dieser Reaktion verantwortlich ist, andererseits die 20ß-Reduktase, die Cortisol zu Reichstein Substanz E und Cortison zu Reichstein Substanz U metabolisiert.

Außerdem zeigten Karl et al (124), daß die metabolische Aktivität der beiden topographisch verschiedenen Fettgewebe Unterschiede aufwies, nicht qualitativ, sondern nur quantitativ, wobei das Omentum majus aktiver war. Die qualitative Verteilung der Cortisolmetaboliten war in allen Experimenten identisch.

II - 4) GEHIRN

Das Gehirn des Menschen spielt bei vielen physiologischen Mechanismen eine übergeordnete Rolle, so auch in der Regulation des Hormonhaushaltes. Der Hypophysenvorderlappen setzt ein Hormon frei (ACTH), das auf die Nebennierenrinde wirkt und dabei die Produktion und Freisetzung von Glucocorticoiden stimuliert (206). Auf die Stimulation durch ACTH reagieren im Wesentlichen nur die Glucocorticoide, während für die Regulation des Mineralocorticoidhaushaltes (Aldosteron) andere Mechanismen (Renin-Angiotensin-System) verantwortlich sind. Nach ihrer Freisetzung wirken die Corticosteroide auf die einzelnen Zielorgane. Zwischen dem Gehirn, einem dieser Zielorgane, und der Nebennierenrinde bildet sich ein Regelkreis aus.

Während über die physiologischen und biochemischen Funktionen der Corti-

costeroide im Gehirn und die Bindung an spezifische Rezeptorproteine bereits sehr viele Informationen vorliegen (4)(37)(85)(104)(106)(109)(136)(151-156)(169)(183)(202)(215)(216)(233), ist über die Biotransformation der Corticosteroide im Gehirn wenig bekannt.

Eik-Nes & Brizee (64) berichteten schon 1964 über die in vitro Oxidation von 1,2-$^{3}H_{2}$ Cortisol zu ^{3}H Cortison im Hypophysenvorder- und -hinterlappen, der Eminentia mediana, dem Nucleus supraopticus und im Cortex des Hundes. Weitere Untersucher zeigten dasselbe: Peterson, Chaikoff & Jones (184) demonstrierten die Oxidation von Cortisol zu Cortison im Gehirngewebe und dessen Kern-Fraktionen bei jungen und alten Ratten. Zugabe von NADP erhöhte die Oxidationsrate. Weiterhin beobachteten sie, daß die Oxidationskapazität dieses Enzymsystems bei neugeborenen Ratten sehr gering war, sich während der weiteren Entwicklung des Gehirns aber schnell erhöhte (s. Abb. 21).

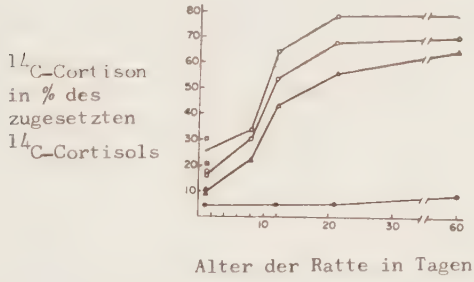


Abb. 21: Die Oxidation von Cortisol zu Cortison durch subzelluläre Fraktionen des Rattengehirns in verschiedenen Entwicklungsstadien. Jede Suspension enthält 1,3 g Gehirngewebe. Die Suspensionen wurden für 4 Stunden mit 0,011 µg/ml [^{14}C] Cortisol (1200 DPM/ml Inkubationsmischung) in 10 ml Phosphatpuffer und mit 1,0 mM-NADP inkubiert. □ , 800 g Sediment; O , 20.000 g Sediment; △ , 100.000 g Sediment; ● , 100.000 g Überstand (184).

Versuche von Sholiton, Werk & MacGee (204) ergaben dieselben Ergebnisse; zusätzlich fanden sie kleine Mengen von Metaboliten, die am A-Ring oder an der Seitenkette reduziert waren (s. Abb. 22).

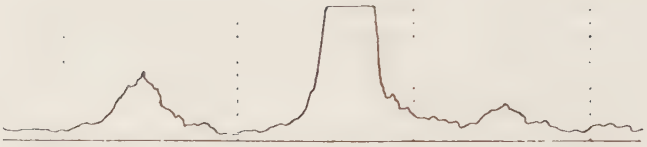


Abb. 22: Radioscan des Chromatogramms des Chloroformextraktes eines mit Cortisol-4-C^{14} inkubierten Rattengehirns (204).

Touchstone et al (227) konnten diese Substanzen ebenfalls als Cortisol, Cortison, Tetrahydrocortisol, Tetrahydrocortison und 20ß-Hydroxysteroide identifizieren.

Umfangreiche Ergebnisse erbrachten die Forschungen von Grosser & Mitarbeitern. Schon 1963 zeigten Grosser & Bliss (99), daß die Großhirnrinde der Ratte in vitro Corticosteron, Cortisol und 11ß-Hydroxyandrostenedion zu den entsprechenden 11-Keto-Verbindungen, 11-Dehydrocorticosteron, Cortison und Adrenosteron metabolisieren konnte. Die Oxidationsrate des Corticosterons war höher als die des Cortisols und 11ß-OH-Androstenedions. Der Zusatz von TPN oder TPNH als Kofaktoren steigerte die Reaktionsraten. 11-Keto-Verbindungen als Substrate demonstrierten die Umkehrbarkeit dieser Reaktionen.

In einem anderen Versuch untersuchte Grosser (100) den Metabolismus von 11ß-Hydroxysteroiden im Mäusegehirn. Er stellte fest, daß sich Mäuse- und Rattengehirne in der Fähigkeit, Corticosteron, Cortisol und 11ß-Hydroxyandrostenedion am C_{11} zu metabolisieren, ähnlich sind. Der Zusatz von NADP erhöhte die Dehydrogenase-Aktivität sowohl in Mäuse-, als auch in Rattengehirne (100)(184).

Ein anderer Versuch (100) mit neoplastischem Gehirngewebe (Mäuse-Gliom 261) zeigte, daß tumoröses Gewebe etwa dreimal mehr oxidieren konnte als normales Gewebe, was darauf schließen läßt, daß Neoplasmen möglicherweise einen aktiveren Stoffwechsel im Vergleich zu normalem, nicht-tumorösen Geweben besitzen (s. Tab. 9).

Tabelle 9: Prozentsatz, umgewandelt zu 11-Ketosteroiden, NADP im Homogenat angereichert (100).

Umwandlungsprodukt	Kontrolle	Gliom	Normales Gehirn
Cortison	NE	36,9	12,4
	NE	38,3	9,3
11-Dehydrocorticosteron	NE	83,4	27,0
	NE	84,1	31,6
Adrenosteron	NE	9,4	3,3
	NE	9,9	3,3

NE = NICHT ERMITTELT

Grosser & Bliss (101) untersuchten den Steroidmetabolismus in verschiedenen Gehirnarealen von Ratten, Meerschweinchen und Hunden. Die weiteren Ausführungen betreffen zunächst das Rattengehirn: Die Umwandlung der Steroide als Funktion der Zeit trat in der folgenden Reihenfolge in der Großhirnrinde auf: Corticosteron > Cortisol > 11ß-Hydroxyandrostenedion. Zusatz von TPN erhöhte die Umwandlungsaktivität (s. Abb. 23).

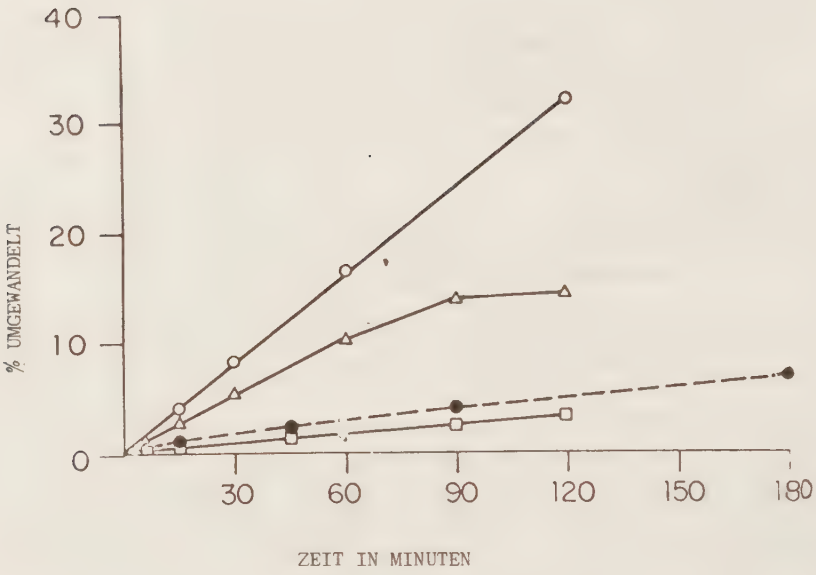


Abb. 23: Die Oxidation von 11-Hydroxysteroiden als Funktion der Zeit. Oxidation in Homogenaten von Rattengroßhirnrinde unter TPN-Zusatz. Jeder Punkt gibt den Durchschnitt von mindestens zwei Inkubationen an. Die Ordinate zeigt den Prozentsatz umgewandelt zu 11-Ketosteroiden, wobei 1,0 µg der folgenden Steroide als Substrat benutzt wurden: O———O Corticosteron, △———△ Cortisol, □———□ 11ß-Hydroxyandrostenedion; ●-- --● zeigt den Prozentsatz umgewandelt zu 11-Dehydrocorticosteron, wobei Corticosteron in Homogenaten ohne TPN-Zusatz inkubiert wurde (101).

Abb. 24 zeigt die Reversibilität der Reaktion mit 11-Ketosteroiden als Substrat. Durch den Zusatz von TPNH wurde die Reaktionsgeschwindigkeit beträchtlich erhöht.

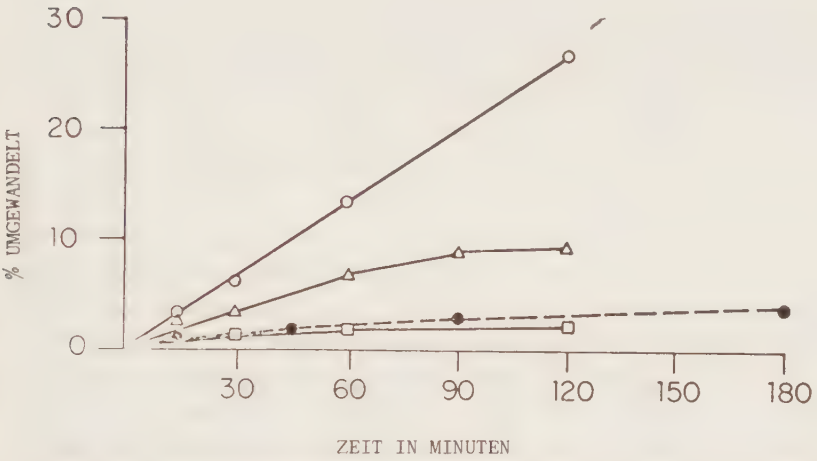


Abb. 24: Die Reduktion von 11-Ketosteroiden durch die Rattengroßhirnrinde als Funktion der Zeit. Analog Abb. 23, nur wurde TPNH an Stelle von TPN eingesetzt. Die Ordinate zeigt den Prozentsatz, umgewandelt zu 11-Hydroxysteroiden, wobei die folgenden Steroide als Substrat benutzt wurden: O——O 11-Dehydrocorticosteron, △——△ Cortison, □——□ Adrenosteron; ●--- ---● zeigt den Prozentsatz, umgewandelt zu Corticosteron, wobei 11-Dehydrocorticosteron ohne Zusatz von TPNH inkubiert wurde (101).

Auch andere Areale des Rattengehirns wurden untersucht (101). So haben, bezogen auf den Cortex, der Subcortex nur 1/5, der Hypothalamus nur etwa 1/10 der Kapazität, Corticosteron zu 11-Dehydrocorticosteron zu oxidieren. Das Kleinhirn zeigte andererseits eine 1,2fach so hohe Oxidationsaktivität.

Beim Meerschweinchen konnte keine 11ß-Hydroxydehydrogenase-Aktivität im Gehirn festgestellt werden. Dagegen wurde bei Versuchen mit der Hundegroßhirnrinde die Oxidation von Cortisol zu Cortison nachgewiesen. Daraus ist zu schließen, daß das Ratten- und Hundegehirn 11ß-Hydroxydehydrogenase enthalten. Der Befund, daß im Meerschweinchengehirn Cortisol und Cortico-

steron am C_{11} nicht verändert werden konnten, ist möglicherweise typisch für diese Spezies, obwohl Beweise dafür vorliegen, daß andere Gewebsarten des Meerschweinchens (29)(31)(32) diese Steroide metabolisieren konnten.

In anderen Versuchsreihen experimentierten Grosser et al zunächst mit den Gehirnen neugeborener Ratten (102), dann erstmalig mit Primatengehirnen (103)(190). Sie demonstrierten, daß die Acetylierung am C_{21} ein weiterer wichtiger Reaktionsweg neben den bereits erwähnten ist. Diese Reaktion wird durch die Corticosteroid-21-O-Acetyltransferase vermittelt (190). Dieser Reaktionsvorgang wurde in keinem anderen Gewebe als dem Gehirn beobachtet.

Durch diese Versuche mit fetalen, neugeborenen und erwachsenen Pavianengehirnen zeigten Grosser & Axelrod (103), daß in den verschiedenen Stadien der Entwicklung Unterschiede im Stoffwechsel von Cortisol auftreten. Aus Tab. 10 ist zu erkennen, daß das Gehirn des fetalen Pavians (im zweiten Trimenon) in fast allen untersuchten Gehirnarealen 11ß-Hydroxydehydrogenase-Aktivität enthält. Die verschiedenen Areale, insbesondere die Großhirnrinde, zeigten außerdem auch die Fähigkeit, Cortisol und Cortison am C_{21} zu acetylieren. Im dritten Trimenon des fetalen Pavianengehirns war die Cortisol-Acetylation beträchtlich. 11ß-Hydroxydehydrogenase-Aktivität war in allen Arealen vorhanden, vor allem im Kleinhirn, wo etwa 50% des inkubierten Cortisols zu Cortison oxidiert wurden. Dies ist bereits in einer früheren Arbeit (101) beschrieben worden. Auch im Kleinhirn war Cortison-Acetat Hauptprodukt der Acetylierung. Alle Areale des neugeborenen Gehirns konnten Cortisol am C_{11} oxidieren und am C_{21} acetylieren, aber quantitativ gesehen war die Acetylationsaktivität verglichen mit dem fetalen Paviangehirn des zweiten und dritten Trimenons weniger groß. Das erwachsene Paviangehirn zeigte Dehydrogenase-Aktivität, aber die Kapazität, Cortisol zu acetylieren, war beträchtlich geringer, verglichen mit dem Gehirn fetaler und neugeborener Paviane.

Aus diesen Experimenten (103) geht hervor, daß die Acetylation mit der weiteren Entwicklung des Gehirns abnimmt. Vielleicht steht dies mit der Anwesenheit von Esterasen, deren Aktivität während der Entwicklung des Gehirns ständig zunimmt (41)(127)(145), wie z.B. der Acetylcholinesterase in Zusammenhang, welche Corticosteroid-Acetate im Moment ihrer Bildung hydrolisieren (103).

Tabelle 10: Der Stoffwechsel von Cortisol in verschiedenen Gehirnarealen des in Entwicklung stehenden Paviangehirns (103).

Areal	Gewebs-gewicht	Prozent der zurückgewonnenen Steroide			
		Cortisol	Cortison	Cortisol-21-Acetat	Cortison-21-Acetat
	g				
(A) Zweites Trimenon					
Cortex	0,5	30,3	0,6	17,0	0,5
	0,5	27,5	1,6	17,9	1,7
Cerebellum	0,5	32,6	2,6	3,1	1,7
Medulla	0,3	43,4	NE	4,4	NE
Thalamus-Hypothalamus	0,2	46,2	0,8	4,4	NE
Kontrolle	-	50,3	NE	NE	NE
	-	55,1	NE	NE	NE
(B) Drittes Trimenon					
Cortex	0,5	56,7	3,4	10,9	2,2
	0,5	56,3	4,6	11,1	2,6
Cerebellum	0,5	26,0	31,6	1,6	10,5
	0,5	28,1	21,6	2,1	7,4
Medulla	0,2	68,0	0,4	4,5	NE
	0,2	47,7	0,5	4,8	NE
Thalamus-Hypothalamus	0,5	57,0	3,5	4,2	1,3
	0,5	54,2	6,7	4,6	3,1
Kontrolle	-	54,2	NE	NE	NE
	-	58,8	NE	NE	NE

NE = NICHT ERMITTELT

(Tab. 10 Fortsetzung)

Areal	Gewebsgewicht	Prozent der zurückgewonnenen Steroide			
		Cortisol	Cortison	Cortisol-21-Acetat	Cortison-21-Acetat
	g				
(C) NEUGEBOREN					
Cortex	0,5	54,1	0,7	5,3	0,6
	0,5	54,1	1,2	5,5	0,6
Cerebellum	0,5	48,3	7,0	1,2	0,9
	0,5	48,5	7,4	1,2	0,9
Medulla	0,15	68,3	0,5	2,8	NE
	0,15	58,7	0,5	2,8	NE
Thalamus-Hypothalamus	0,5	56,7	2,0	1,3	NE
Kontrolle	-	72,3	NE	NE	NE
	-	70,6	NE	NE	NE
(D) ERWACHSEN					
Cortex	0,5	59,8	6,7	0,5	NE
	0,5	46,4	5,3	0,5	NE
Cerebellum	0,5	50,0	2,5	NE	NE
	0,5	59,0	3,1	NE	NE
Medulla	0,28	65,9	1,0	NE	NE
	0,28	53,1	1,1	NE	NE
Thalamus-Hypothalamus	0,5	51,5	1,6	NE	NE
	0,5	55,3	2,1	NE	NE
Kontrolle	-	59,6	NE	NE	NE
	-	56,3	NE	NE	NE

NE = NICHT ERMITTELT

Der Corticosteroidmetabolismus der Rattengroßhirnrinde in vivo (105) entsprach dem in in vitro Inkubationsversuchen beobachteten (99-101). Die Endprodukte waren dieselben. Es wurde hauptsächlich Corticosteron metabolisiert. Sie unterschieden sich lediglich darin, daß die in vivo Versuche einen größeren Anteil unveränderten Cortisols und Corticosterons ergaben. Ob eine Verlangsamung der Reaktionsgeschwindigkeit für Cortisol und Corticosteron in vivo oder eine beschleunigte Freisetzung der Metaboliten im Blutkreislauf Ursache dieses Unterschiedes ist, ist nicht bekannt. Ähn-

liche Ergebnisse konnten bei den in vivo Experimenten an Primatengehirnen registriert werden (8).

Zusammenfassend läßt sich sagen, daß Sholiton (204), Peterson (184), Grosser (99) und andere Autoren die Oxidation am C_{11} als wesentliche metabolische Reaktion der 11-Hydroxysteroide im Rattengehirn erkannten. Die 11ß-Hydroxydehydrogenase war außerdem in verschiedenen Gehirnarealen anderer Spezies nachweisbar, z.B. bei Pavianen (103)(190) und Hunden (64) (101).

Zwar konnte Cortisol beim Menschen schon aus dem Liquor cerebrospinalis (15)(195), dem Gehirn (227), dem Plexus lumbosacralis und den Ganglien des sympathischen Nervensystems (225) isoliert werden, doch liegen noch keinerlei weitere Ergebnisse oder Befunde über den Corticosteroidstoffwechsel im Gehirn des Menschen vor.

II - 5) LUNGE

Der Corticosteroidstoffwechsel der Lunge erlangte in den letzten Jahren größte Aufmerksamkeit und war Gegenstand intensiver Untersuchungen.

Die Rolle der Glucocorticoide in der Entwicklung der fetalen Lunge wurde mehrmals beim Hasen untersucht. Beim Hasen und anderen Spezies konnte durch die Verabreichung von Glucocorticoiden während der entscheidenden Phasen der Entwicklung eine beschleunigte Reifung der Lungen beobachtet werden (90)(92). Zudem zeigten die Glucocorticoide unter physiologischen Bedingungen einen regulierenden Effekt in der Entwicklung und Reifung der Lunge (92).

Die Anwesenheit spezifischer Corticosteroid-Rezeptoren im Cytoplasma und den Zellkernen der fetalen Lungen des Hasen (14)(88-90) und anderer Spezies (91) ist ein Beweis dafür, daß die Lunge ein wichtiges Zielorgan der Corticosteroide ist.

Giannopoulos (92) inkubierte Hasenfetenlungen am 28. Schwangerschaftstag mit Tritium-markiertem Cortison bzw. Cortisol. Er fand, daß die Fetenlungen Cortison umwandeln konnten, wobei Cortisol das Hauptprodukt war

(64-71% umgewandelt). Cortisol wurde in geringerem Umfang metabolisiert, 68-75% des nachgewiesenen Substrats blieben unverändert, während lediglich 10-14% zu Cortison oxidiert wurden.

Bei in vivo Untersuchungen (92) wurde eine kleine Menge von Cortison (5-7% der Radioaktivität) 20 Minuten nach Beimpfung des Feten mit markiertem Cortisol in utero, in der Lunge gefunden. Diese Befunde zeigten, daß die fetale Hasenlunge biologisch inaktives Cortison zu biologisch aktivem Cortisol umwandeln konnte. Auch die Umkehrung dieser Reaktion war möglich, jedoch in weitaus geringerem Umfang.

Kurzgefaßt, die Lungenzellen können Cortison aufnehmen und in eine aktivere Form (Cortisol) verwandeln. Anschließend kann Cortisol in den Zellkern transportiert und an spezifische Rezeptoren gebunden werden, wo es seine Wirkung entfalten kann.

Sowell et al (213) untersuchten den Metabolismus von Cortison-4-^{14}C in Rattenlungengeweben. Sie fanden die folgenden Enzyme: 11ß-Hydroxydehydrogenase, Δ^4-5α-Reduktase, 3α-Hydroxydehydrogenase und 20α-Hydroxydehydrogenase. Folgende Metaboliten wurden identifiziert: Hydrocortison (Cortisol); 17α, 20α, 21-Trihydroxy-4-pregnen-3,11-dion (Reichstein Substanz epi-U) und 3α, 17α, 21-Trihydroxy-5α-pregnan-11,20-dion (Allo THE). 11ß-Hydroxydehydrogenase-Aktivität wurde bereits früher in Ratten- und Meerschweinchenlungen (130)(212)(237), Δ^5-3-Keto-Isomerase-Aktivität in der Rattenlunge nachgewiesen (133).

In Tabelle 11 zeigten Sowell et al die Mittelwerte der prozentualen Verteilung der zurückgewonnenen radioaktiven Metaboliten aus vier Versuchen. Sie wurden erst mit Homogenaten und dann mit Überständen durchgeführt. Cortisol war mit 32% der Hauptmetabolit, welcher aus den Homogenaten isoliert werden konnte, gefolgt von Allo-THE mit 16%. 2% der Radioaktivität konnten der Reichstein Substanz epi-U zugeordnet werden. Weniger als 1% konnte nicht identifiziert werden. Dies waren hochpolare oder nichtpolare Substanzen. 48% des als Substrat eingesetzten Cortisons blieben unverändert.

Tabelle 11: Prozentuale Verteilung der zurückgewonnenen Radioaktivität* (213).

METABOLITEN	HOMOGENAT	9000 x g ÜBERSTAND
Zone A, nichtidentifiziert	1	1
Hydrocortison (Cortisol)	32	12
3α, 17α, 21-Trihydroxy-5α-pregnan-11,20-dion (Allo-THE)	16	22
17α, 20α, 21-Trihydroxy-4-pregnen-3,11-dion (epi-U_R)	2	1
Cortison	48	64
Zone E	1	1

*Durchschnitt aus 4 Versuchen.

Wurde Cortison-4-^{14}C mit 9000 x g Überstand inkubiert, so zeigten die Ergebnisse, verglichen mit der Homogenatserie, quantitative Unterschiede. Cortison wurde in geringerem Umfang als beim Homogenat metabolisiert (64%). Außerdem entstand mehr Allo-THE als Hydrocortison (Cortisol). Sowell et al (213) folgerten aus diesen Befunden, daß die Δ^4-Reduktase-Aktivität größtenteils an die mikrosomale Fraktion gebunden ist, weil der 9000 x g Überstand dem mikrosomalen Anteil der Zelle entspricht. Auch die 3α-Hydroxydehydrogenase-Aktivität war an die mikrosomale Fraktion gebunden.

Sowell et al (213) stellten weiter das Fehlen Δ^4-reduzierter Cortisolmetaboliten fest (s. Tab. 11). Möglicherweise reagieren die Δ^4-Reduktasen in der Rattenlunge bevorzugt mit 11-Keto-Substraten wie Cortison, verglichen mit 11ß-Hydroxy-Substraten wie Cortisol (213). Sowell et al (213) beschrieben kurzgefaßt, daß die Lunge Corticosteroide am C_{11} oxidieren und reduzieren kann. Reduktionen waren auch am A-Ring und am C_{20}-Keton des Steroids möglich.

Die verschiedenen Tierspezies zeigen Unterschiede im Grad der Reversibilität der Reaktion der 11ß-Hydroxydehydrogenase im Lungengewebe (130)(181)(182)(209). In der Lunge der erwachsenen Ratte ist diese Reaktion aber auf jeden Fall reversibel (130).

Bis jetzt ist in der vorhandenen Literatur die Frage des Metabolismus von Cortisol und Cortison in der fetalen Lunge des Menschen umstritten. Nach-

dem Pasqualini et al (181) markiertes Cortison und Cortisol in den intakten fetoplazentaren Kreislauf appliziert hatten, beobachteten sie, daß das menschliche Fetalgewebe, einschließlich der Lunge Cortisol in beträchtlichem Umfang zu Cortison umwandeln konnte; dagegen war es nicht möglich, biologisch inaktives Cortison in aktives Cortisol zurückzuverwandeln. Andererseits zeigten Smith et al (209) an einer einschichtigen Zellkultur aus menschlicher Fetallunge, daß Cortison schnell zu Cortisol umgewandelt werden konnte, während die umgekehrte Reaktion von Cortisol zu Cortison nur gering war.

Auch Zellen aus tumorösen Lungengeweben können Cortisol metabolisieren. Ein gutes Beispiel sind die Versuche von Kemény et al (128). Tabelle 12 zeigt ihre Ergebnisse mit mehreren, histologisch unterschiedlichen Typen von Lungenkrebs.

Die Fälle in Tabelle 12 sind nach der Kapazität ihres Cortisol-Metabolismus geordnet, wie aus der dritten senkrechten Spalte zu erkennen ist. In den ersten drei Fällen wurde kein Metabolismus beobachtet, aber vom vierten bis zum dreizehnten Fall ist eine ständige Erhöhung in der Transformationsrate zu beobachten. Bei Fall Nr. 14 wurde eine beträchtliche Menge polarer Verbindungen isoliert, während ähnliche Produkte in den anderen dreizehn Fällen nicht nachgewiesen werden konnten. In vier Fällen konnte außerdem eine apolare Fraktion isoliert werden, erkenntlich aus der fünften senkrechten Spalte. Der Vergleich der unterschiedlichen histologischen Typen zeigt, daß die Kapazität des Corticosteroidmetabolismus umgekehrt proportional zum Differenzierungsgrad des Tumors ist (128). Für dieses Phänomen ist möglicherweise eine erhöhte Aktivität der 11ß-Hydroxydehydrogenase verantwortlich.

Tabelle 12: Vergleich des Cortisol-Stoffwechsels und die histologischen Typen von 14 Lungentumor-Geweben (128).

Nr.	Total zurückgewonnen (%)	Chromatographische Trennung (% von Cortisol)			Nekrose	Histologische Typen des Lungenkrebses
		Cortison	Unbestimmte Polar	Kataboliten Apolar		
1	30	-	-	-	Extensiv	Plattenepithelcarcinom
2	50	-	-	-	Extensiv	Plattenepithelcarcinom
3	52	-	-	-	Extensiv	Plattenepithelcarcinom
4	67	6,0	-	-	Extensiv	Plattenepithelcarcinom
5	88	7,5	-	17,5	Extensiv	Gut geformtes Zylinderepithel Ein größerer Grad von Polymorphzelligen
6	73,5	7,8	-	-	Minimal	Plattenepithelcarcinom Ein größerer Grad von Polymorphzelligen
7	74,0	7,9	-	-	Minimal	Plattenepithelcarcinom
8	89	8,3	-	-	Minimal	Adenocarcinom, gutgeformtes kubisches und Zylinderepithel
9	67	8,8	-	3,2	Extensiv	Glanduläre Struktur Differenziertes Zylinderepithel
10	75,0	9,3	-	16,0	Minimal	Undifferenziertes kleinzelliges Carcinom
11	80,0	15,8	-	7,1	-	Schlechtdifferenziertes Plattenepithelcarcinom
12	70,0	30,0	-	-	Minimal	Undifferenziertes Plattenepithelcarcinom
13	99,7	50,1	-	-	-	Undifferenziertes "oat-cell Carcinom"
14	67,5	8,1	8,2	-	Minimal	Bronchusadenom mit muköser Sekretion

Dougherty et al (21)(60) beobachteten an Lymphoid-Zellen ein ähnliches Phänomen. Sie behaupteten, daß die 11ß-Hydroxydehydrogenaseaktivität einer Lymphoidzelle um so höher ist, je undifferenzierter sie ist. Dagegen zeigen hochdifferenzierte Tumoren eine niedrige metabolische Aktivität.

Kemény et al (128) versuchten, Gewebe zu inkubieren, das noch keinen nekrotischen Veränderungen unterlag; aber anscheinend war dies nicht immer möglich. Nekrotisches Gewebe zeigt andere Eigenschaften als normales Gewebe, wie aus den drei ersten Fällen ersichtlich ist. Möglicherweise ist die Fähigkeit nekrotischer und unversehrter Gewebe, Steroide zu binden, unterschiedlich (128).

II - 6) BINDEGEWEBE

Der folgende Abschnitt beschreibt den Corticosteroidmetabolismus des Bindegewebes. Die Interzellulärsubstanzen, Grundsubstanzen und Fasern, werden von Fibroblasten bzw. Fibrozyten gebildet. Dies sind die "Bindegewebszellen" im eigentlichen Sinn, von ihnen stammen auch die knorpel- und knochenbildenden Zellen ab (137).

Der Fibrozyt ist die zeitweise oder dauernd inaktive Bindegewebszelle, die man in ausdifferenzierten Bindegeweben als Fibrozytenverband ("fixe Bindegewebszellen") findet (137). Im wachsenden Bindegewebe dominiert der Fibroblast, der Grundsubstanz und Fasern bildet.

Neben den Fibroblasten, dem zellulären Hauptbestandteil, finden sich als freie zelluläre Bestandteile des Bindegewebes auch andere Zellen wie z.B. Histiozyten, Mastzellen und Leukozyten (137). Je faserreicher das Bindegewebe ist, desto mehr treten die Zellen in den Hintergrund. Die freien Zellen, wie Histiozyten, Granulozyten usw. treten z.B. nur in den lockeren Bindegeweben, nicht in strafferen Anteilen auf (137).

Dougherty et al (58) untersuchten entzündlich verändertes, mit Corticosteroid-Hormonen behandeltes Bindegewebe. Die höchste Hormonkonzentration fand sich in den Fibroblasten, die auch die ausgeprägteste intrazelluläre Reaktion auf das Hormon zeigten.

Berliner & Dougherty (16)(19) beobachteten den Cortisol-Metabolismus in lockerem (fasernarmen) Bindegewebe. Sie inkubierten lockeres Mäusebinde-

gewebe, das histologisch zu 90% aus Fibroblasten bestand, mit Cortisol-4-^{14}C (16). Danach konnten sie fünf Verbindungen identifizieren, die durch Metabolisierung von Cortisol in den Fibroblasten entstanden waren: Reichstein Substanz epi-E, Cortison, Dihydrocortisol, Corticosteron und 4-Androsten-11ß-ol-3, 17-dion (11ß-Hydroxyandrostenedion).

Diese Produkte zeigen die Fähigkeit der Fibroblasten, Cortisol am C_{20} zu reduzieren, am C_{11} zu oxidieren und die Seitenkette am C_{17} oxidativ abzuspalten, wobei die C_{19}- bzw. 17-Ketosteroide entstehen. Außerdem enthalten die Fibroblasten ein weiteres Enzym, die 17-Dehydroxylase, welche für die Umwandlung von Cortisol zu Corticosteron verantwortlich ist.

In weiteren Versuchen mit einer U_{12}-79-Fibroblastenlinie und Osteosarkomzellen von Beagle-Hunden konnten Berliner, Swim & Dougherty (18) dieselbe Reaktion (Cortisol zu Corticosteron) zeigen. Außerdem beobachteten sie, daß Corticosteron nicht wieder in Cortisol umgewandelt werden konnte, sondern weiter zu 4-pregnen-11ß, 20ß, 21-triol-3-on umgebaut wurde.

Wie bereits erwähnt, zeigten Sweat et al (219) an Kulturen menschlicher Fibroblasten die Reduktion von Cortisol am C_{20}.

II - 7) KNOCHENGEWEBE

Auch das Knochengewebe kann, wie im folgenden Abschnitt gezeigt wird, Corticosteroide metabolisieren.

Versuche von Murota, Shikita & Tamaoki (163) zeigten, daß Knochengewebe aus dem Hühnerembryo Enzyme für den Abbau von Cortisol enthält. Die Chromatographie des Extraktes eines mit Knochengewebe des Femurs und 4-^{14}C-Cortisol inkubierten Kulturmediums ergab neun Metaboliten, einschließlich unverändertes 4-^{14}C-Cortisol. Als Hauptmetabolit dieser Gewebekultur wurde Tetrahydrocortisol (THF) isoliert. In einem anderen Versuch mit Epiphysenhomogenaten vom Femur und Tibia wurde ebenfalls Cortisol zu THF metabolisiert.

Kontrollinkubationen ohne Knochengewebe zeigten keine Cortisol-Biotransformation. Die Ergebnisse dieser Versuche sind in Tabelle 13 zusammenge-

faßt. Sie beweisen, daß die Anwesenheit des Knochengewebes Voraussetzung für den Metabolismus von Cortisol ist und nur das Knochengewebe, nicht das Kulturmedium die spezifischen Enzymen enthält.

Das Knochengewebe, welches aus dem Kulturmedium kurz nach der Inkubation mit Cortisol entnommen wurde, enthielt auch kleine Mengen von [^{14}C] Tetrahydrocortisol; das Verhältnis THF/F war im Knochengewebe beträchtlich höher als im Kulturmedium ohne Knochengewebe.

Tabelle 13: Quantitative Analyse der Hauptmetaboliten von Cortisol im Knochengewebe (163).

	Knochen		Medium (nach Kultivierung)		Medium (inkubiert ohne Knochen)		Knochen Homogenate
Gruppe	A	B	A	B	A	B	
THF	54,8	51,0	15,2	25,9	0	0	3,8
DHF	11,3	8,4	3,4	2,1	0	0	0
F	16,3	15,7	55,1	44,7	77,4	78,0	90,0
THF/F	3,37	3,24	0,28	0,58	—	—	0,04

Gruppe A: Neun Tage altes Hühnerembryo-Femur in vitro im Naturnährmedium mit 10^{-4}M [4-^{14}C] Cortisol zwei Tage lang kultiviert.

Gruppe B: Nach einer zweitägigen Vorinkubation mit kaltem 10^{-4}M Cortisol wurde dasselbe Verfahren durchgeführt, wie bei Gruppe A.

Knochenhomogenat: Homogenat der Epiphysen von Femur und Tibia eines dreizehn Tage alten Hühnerembryos wurde mit [4-^{14}C] Cortisol in Anwesenheit von NADPH bei 38° für 60 Minuten inkubiert. Die Mengen der einzelnen Produkte sind in Prozent der Gesamtmetaboliten und der zurückgewonnenen Substrate angegeben. F = Cortisol, DHF = Dihydrocortisol, THF = Tetrahydrocortisol.

Wie zu sehen ist, konnte auch Dihydrocortisol (DHF) isoliert werden. Allo-Tetrahydrocortisol (Allo-THF), das neben dem Hauptmetaboliten THF im Urin gefunden werden kann (35)(192), war in diesen Versuchen unbedeutend. Dieses Ergebnis deutet daraufhin, daß die Δ^4-5α -Reduktase im embryonalen Knochengewebe nicht vorhanden ist. Nur die 3α -Hydroxydehydrogenase und die Δ^4-5ß-Reduktase waren deutlich vorhanden.

Da der Knochen des Hühnerembryos aus vielen unterschiedlichen Zellen, wie Knorpelzellen, Fibroblasten, Osteoblasten usw. besteht, geht aus diesen Versuchen (163) nicht klar hervor, welche Zellarten für den Stoffwechsel verantwortlich waren. Wahrscheinlich waren es die Knorpelzellen, weil Cortisol zu THF metabolisiert wurde, nachdem der epiphysäre Anteil des Knochens im Homogenat mit Cortisol inkubiert wurde. Gegen die Fibroblasten als Träger dieser Reaktion spricht weiterhin, daß ihr Anteil im Knochengewebe, gemessen an dem der Knorpelzellen, relativ gering ist. Zudem liegen Befunde vor (20), daß die Fibroblasten weder 3α- noch 3ß-Hydroxydehydrogenase enthalten.

Mehr als sieben andere Metaboliten wurden entdeckt, aber nicht weiter untersucht, da sie möglicherweise nicht knochenspezifisch waren (163). Ungeklärt blieb die Frage, ob THF weiter abgebaut werden kann. Da aber weder Cortole noch C_{19}-Metaboliten vorhanden waren, ist anzunehmen, daß zumindest in diesen in vitro Versuchen Tetrahydrocortisol (THF) das Endprodukt des Cortisolmetabolismus darstellt.

Ein weiterer Versuch von Murota, Endo & Tamaoki (164) zeigte ähnliche Ergebnisse. Sie verwendeten ein chemisch definiertes synthetisches Medium. Neben DHF und THF konnte auch 11ß-Hydroxyandrostenedion als Metabolit nachgewiesen werden (s. Abb. 25).

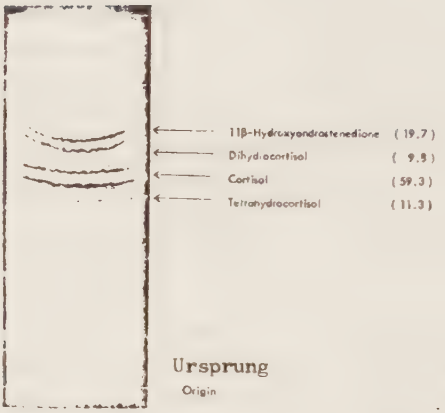


Abb. 25: Autoradiogramm eines Dünnschicht-Chromatogramms der [4-^{14}C] Cortisolmetaboliten, extrahiert aus einem synthetischen Medium BGJb-HW, in dem ein neun Tage altes Hühnerembryo-Femur mit [4-^{14}C] Cortisol für zwei Tage kultiviert wurde. Die Menge der einzelnen Produkte sind in Prozent der Gesamtmetaboliten und Substrate angegeben (164).

In früheren Versuchen (163) wurde 11ß-Hydroxyandrostenedion den nichtidentifizierten und nichtknochenspezifischen Metaboliten zugerechnet. Trotz dieses früheren Fehlers erkannten Murota et al (164) später, daß auch der Knochen die für die Bildung von 11ß-OHA verantwortliche C_{17}-C_{20}-Lyase enthält.

Der Cortisolmetabolismus im Knochen scheint also zwei verschiedene Wege zu besitzen: Der eine führt zu THF, der andere direkt zu 11ß-OHA. Wie die oben beschriebenen Versuche zeigten, konnten diese beiden Substanzen nicht weiter metabolisiert werden. Auch konnten unter diesen Versuchsbedingungen keine weiteren Enzymsysteme gefunden werden, wie z.B. die 20α-, 20ß- und 11ß-Hydroxydehydrogenasen.

II - 8) SYNOVIALGEWEBE

Die Wirksamkeit intraartikulär applizierten Hydrocortisons (Cortisol) bei rheumatischen Gelenkerkrankungen ist schon lange bekannt. Wegen der leichten Zugänglichkeit des Gelenkspaltes ist es möglich, den Metabolismus *in vivo* zu beobachten. Es werden Glucocorticoide injiziert und nach bestimmter Zeit Synovialflüssigkeit aspiriert, die auf Stoffwechselprodukte der applizierten Glucocorticoide untersucht wird.

Wilson et al (234)(235) konnten mit solchen Methoden zeigen, daß rheumatisches Synovialgewebe Cortison und Cortisol metabolisieren kann. Auch gesundes Synovialgewebe besitzt die Fähigkeit, Cortisol zu metabolisieren (235).

Bekanntlich haben *per os* verabreichtes Cortisol und Cortison dieselbe antiphlogistische Wirkung an der Synovialmembran (234)(235). Wird Cortison aber direkt in den Gelenkspalt appliziert, so zeigt es keinen oder nur geringen Effekt, während Cortisol überaus wirksam ist (234)(235). Die Unwirksamkeit von Cortison in diesen Versuchen ließ *Wilson et al* (234)(235) vermuten, daß möglicherweise eine "chemische Transformation" der Entfaltung der Wirkung vorausgehen muß. Möglicherweise muß Cortison in Cortisol umgewandelt werden, um überhaupt wirksam werden zu können, oder besitzen einer oder mehrere ihrer Metaboliten antiphlogistische Wirkung (234)(235). Weiter beobachteten sie, daß intraartikulär injizierte Steroide sehr schnell aus der Synovialflüssigkeit verschwanden, wobei ein Teil durch das Synovialgewebe absorbiert wurde, ein größerer Anteil aber unverändert in den Blutkreislauf gelangte, wodurch sie langsam in noch unveränderten Form in kleinen Mengen ins kontralaterale Kniegelenk gelangten. Auch aus dem kontralateralen Kniegelenk konnten kleine Mengen von Metaboliten isoliert werden. Dies spricht für einen intraartikulären Metabolismus.

Wären die Metaboliten irgendwo außerhalb des Kniegelenkes entstanden, so hätten beide Gelenke und ihre Synovialflüssigkeiten die gleiche Konzentration an Metaboliten aufweisen müssen (234).

Kurz gefaßt, wiesen Wilson et al (234)(235) durch chromatographische Verfahren in der entnommenen Synovialflüssigkeit eine Reihe von Metaboliten des Cortisols und Cortisons nach. Diese Metaboliten unterschieden sich von Cortisol und Cortison durch eine stärker oder schwächer ausgeprägte Polarität. Möglicherweise waren dies $C_{21}O_6$ Corticosteroide, sowie $C_{19}O_3$ und $C_{19}O_2$ 17-Ketosteroide (235).

Die metabolischen Wege von Cortisol und Cortison wiesen Unterschiede auf. Neben einer Reihe anderer Substanzen war Cortisol Hauptmetabolit des Cortisons. Aus Cortisol dagegen entstanden vorwiegend 17-Ketosteroide, wie z.B. das 11ß-Hydroxy-4-Androsten-3,17-dion (11ß-OHA) (234)(235). All diese Befunde zeigen deutlich, daß das Synovialgewebe die spezifischen Enzymsysteme für den Corticosteroidmetabolismus besitzt.

Ungeklärt ist weiterhin die Frage, warum intraartikulär appliziertes Cortison unwirksam ist, obwohl das Synovialgewebe Cortison in genügenden Mengen zu Cortisol metabolisieren kann. Eine Erklärung dafür wäre, daß Cortisol selbst eigentlich inaktiv ist und sein antiphlogistischer Effekt erst durch einen Metaboliten vermittelt wird, der sich langsam im Synovialspalt anreichert. Nach Wilson et al war die Umwandlung von Cortison zu Cortisol ausreichend, nicht aber die weitere Umwandlung des Cortisols in den oder die für die entzündungshemmende Wirkung verantwortlichen Metaboliten (234)(235).

Murphy & West (165)(166) untersuchten den Metabolismus von Cortisol und Cortison des Synovialgewebes in vitro: Aus rheumatisch alterierten Kniegelenken wurden operativ Gewebsproben entnommen. Aufgrund ihrer spezifischen Aktivität konnten folgende Metaboliten identifiziert werden: Cortisol, Cortison, 20α- und 20ß-Dihydrocortisol, 20α- und 20ß-Dihydrocortison. Außerdem wurden papierchromatographisch auch Metaboliten mit Reduktion im A-Ring und Abspaltung der Seitenkette nachgewiesen. Kofaktoren der Oxidations-, Reduktionsreaktionen von Cortison und Cortisol waren NAD und NADP (166), wobei NADP weitaus aktiver war (194).

Auch Elattar et al stellten Forschungen über den Metabolismus von Cortisol in erkranktem und gesundem Synovialgewebe an. Eine wichtige und entscheidende Untersuchung von Elattar et al (66) war der Nachweis des in vivo Metabolismus von [4-^{14}C] Cortisol im gesunden, rheumatoid-arthritischen und osteoarthritischen Kniegelenk. Jeweils zehn Minuten nach der Injektion von [4-^{14}C] Cortisol in den Gelenkspalt eines gesunden und eines erkrankten Menschen- und Pferdeknies wurde eine Probe der Synovialflüssigkeit entnommen, die Steroide mit Hilfe von organischen Mitteln extrahiert und in freie und konjugierte Fraktionen fraktioniert. Elattar et al (66) experimentierten mit Pferdekniegelenken, weil diese reich an Synovialflüssigkeit und leicht punktierbar sind.

Die Trennung der Metaboliten der freien Fraktion ist aus den Abbildungen 26 und 27 zu ersehen. Die Zahlen in Tabelle 14 zeigen in Prozent der gesamten freien Fraktion die Menge der Metaboliten an, die im Vergleich zum Ausgangssteroid eine höhere oder niedrigere Polarität besassen.

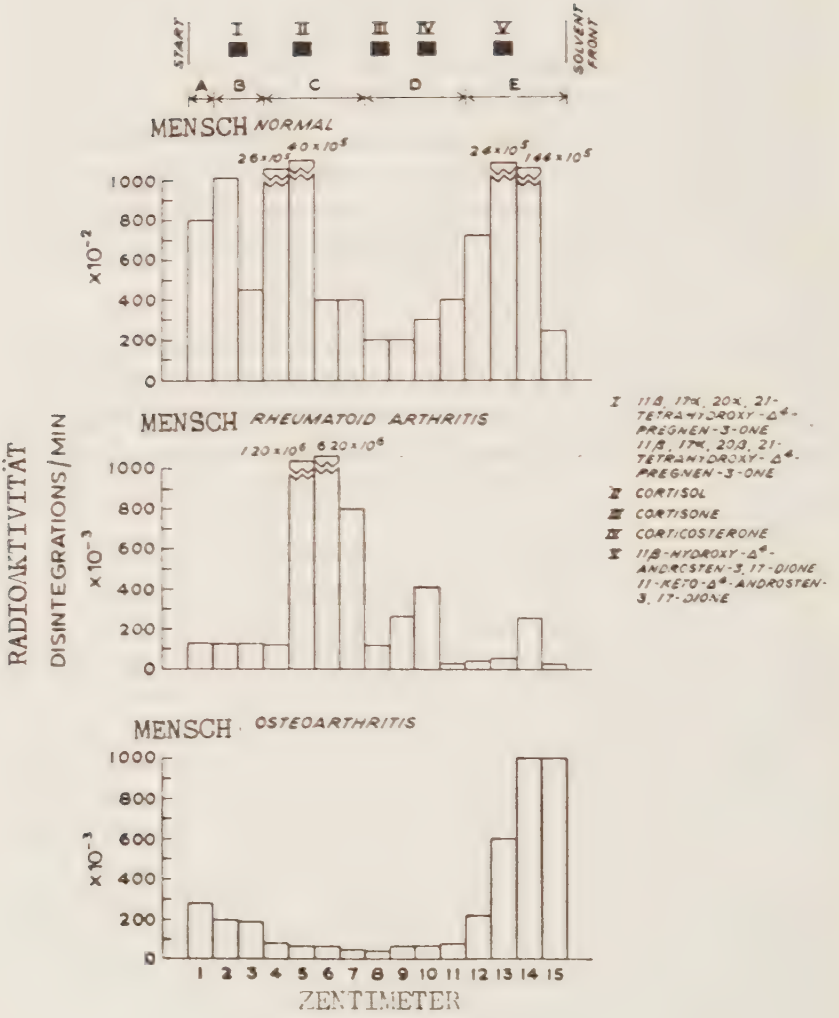


Abb. 26: Einleitende Dünnschichtchromatographie der freien Fraktion des Extraktes beim Menschen im Lösungssystem, Chloroform-Methanol-Wasser (188:12:1, Vol.). I, II, III, IV und V sind authentische Standarde, die simultan chromatographiert werden. A, B, C, D und E sind die entsprechenden Zonen (66).

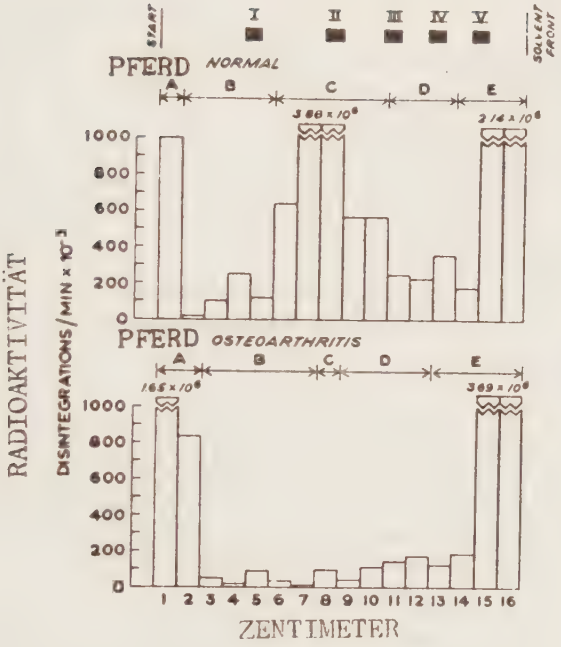


Abb. 27: Einleitende Dünnschicht-chromatographie der freien Fraktion des Extraktes beim Pferd im Lösungs-system, Chloroform-Methanol-Wasser. Symbole entsprechend Abb. 26 (66).

Tabelle 14: Freie Produkte des Cortisol-Stoffwechsels in Synovialflüssigkeit nach der Trennung durch Dünnschichtchromatographie (66).

Spezies	Zonen-Index				
	A	B	C	D	E
Mensch, normal	5	10	47	7	29
Mensch, rheumatoide Arthritis	1	2	80	6	9
Mensch, Osteoarthritis	7	10	6	6	70
Pferd, normal	11	6	44	9	28
Pferd, Osteoarthritis	27	19	1	5	40

Die Zahlen zeigen in Prozent der gesamten freien Fraktion die Menge der Metaboliten an, die eine höhere oder niedrigere Polarität gegenüber dem injizierten Ausgangssteroid besassen. Die Trennung der Standarde, die mit den radioaktiven Zonen korrespondieren, verdeutlicht Abb. 26.

Elattar et al (66) registrierten Unterschiede in der Konzentration der konjugierten Metaboliten in der Synovialflüssigkeit des Kniegelenkes. Im gesunden Knie des Menschen und des Pferdes betrug die freie Fraktion jeweils 85%, im erkrankten, arthritischen Knie jedoch 93% bzw. 96% der totalen Radioaktivität des Extraktes. Obwohl die konjugierten Cortisolmetaboliten nur einen kleinen Prozentsatz einnahmen, waren sie in allen Fällen nachweisbar. Wilson et al (235) zeigten an der Synovialflüssigkeit eines an rheumatoider Arthritis erkrankten Patienten, daß die Einwirkung von Glucuronidase und Papain in den folgenden Extraktionen eine Reihe weiterer Steroide erbrachte.

Tabelle 14 zeigt den beträchtlichen Unterschied im Cortisolmetabolismus zwischen einem gesunden und einem an rheumatoider Arthritis erkrankten Knie: Der Anteil des unveränderten Cortisols in Proben aus normalen Menschen- und Pferdekniegelenken betrug 47% bzw. 44% des Gesamtextraktes. Etwa 80% unverändertes Cortisol fanden sich in der Synovialis eines an rheumatoider Arthritis erkrankten Patienten, jedoch nur 6% bzw. 1% in osteoarthritischen Kniegelenken von Mensch und Pferd, bezogen auf die Radioaktivität des Gesamtextraktes. Diese großen Unterschiede im Anteil des unveränderten Cortisols zwischen gesunden und von obengenannten Krankheiten befallenen Kniegelenken, sind möglicherweise Folge einer En-

zymblockade im erkrankten Knie (66).

Hauptmetabolit des Cortisols in der Synovialflüssigkeit des gesunden und erkrankten Knies war 11ß-Hydroxyandrostenedion (Abb. 26 und 27). Man kann sogar sagen, daß die oxidative Spaltung der Seitenkette maßgeblicher Schritt im Metabolismus von Cortisol und Cortison im Synovialgewebe war (66). Daneben wurden auch 11-Ketoandrostenedion (Adrenosteron) und nicht näher bestimmte stark polare Metaboliten nachgewiesen. Wie aus Tab. 14, sowie aus Abb. 26 und 27 hervorgeht, zeigte die Seitenkettenabspaltung in den beiden Fällen von Osteoarthritis einen beträchtlichen Umfang. Dagegen wurden im Blut und Urin THF und THE als Hauptmetaboliten des Cortisols gefunden (66).

Elattar et al (67) erzielten in einem späteren Versuch identische Ergebnisse. Wieder konnte die rasche Metabolisierung von Cortisol im osteoarthritischen Kniegelenk des Menschen gezeigt werden. Die Metaboliten waren wieder 11ß-Hydroxyandrostenedion, 11-Ketoandrostenedion (Adrenosteron) und außerdem 11ß, 17α, 20ß, 21-Tetrahydroxy-pregn-4-ene-3-on (Reichstein Substanz E). In einem anderen in vivo Versuch an normalen und osteoarthritischen Pferdekniegelenken konnte neben dem 20ß- auch das 20α-Isomer in der Synovialflüssigkeit nachgewiesen werden (65).

In einem in vitro Experiment mit rheumatoiden Synovialgewebe zeigten Elattar et al (69), daß die erkrankte Synovialmembran drei wichtige auf Cortisol einwirkende Enzymsysteme enthält: 11ß-OH-Dehydrogenase sowie 20ß- und 20α-Hydroxydehydrogenasen. Ihnen können folgende Metaboliten zugeordnet werden: Cortison und Reichstein Substanzen E (20ß) und Epi-E (20α-Dihydrocortisol). Dies entsprach in etwa den bereits erwähnten Ergebnissen von Murphy & West (165)(166).

Die Befunde von Elattar et al lassen sich dahingehend zusammenfassen, daß die Enzymaktivitäten durch pathologische Veränderungen am Synovialgewebe stark beeinflußt wurden. Eine hohe Enzymaktivität wurde bei der Osteoarthritis, eine verminderte bei der rheumatoiden Arthritis registriert (66-68). Die nachgewiesenen Metaboliten zeigen an, daß auch das Synovialgewebe mehrere Enzymsysteme enthält, z.B. die C_{17-21}Lyase oder Desmolase, die 11ß-OH-Dehydrogenase und die 20-OH-Dehydrogenase.

Ein weiterer interessanter Befund ist die Beobachtung, daß die Oxidation Hauptreaktion im Corticosteroidmetabolismus der Synovia ist, wodurch im Wesentlichen 17-Ketosteroide entstehen.

II - 9) BLUT

Das Blut ist nicht nur flüssiges Transportmedium, sondern stellt eigentlich eine besondere Gewebsform dar, deren Hauptbestandteile eine Vielzahl von Proteinen und die korpuskulären Elemente sind.

Über den Stoffwechsel von Cortisol in den roten Blutkörperchen oder Erythrozyten (Erys) liegen nur wenige Informationen vor. Migeon et al (159) untersuchten die Verteilung der freien 17-Hydroxycorticosteroide (17-OHCS) zwischen menschlichem Plasma und Erys und fanden dabei, daß eine beträchtliche Menge des freien 17-OHCS im Blut an die Erys gebunden war. Peterson et al (185) beobachteten dasselbe, nachdem sie Cortisol-4-^{14}C injiziert hatten. Die Frage, ob die Corticosteroide nur an die Zellmembran fixiert waren oder ob sie in die Zelle eingedrungen waren, wurde in diesen Versuchen nicht näher abgehandelt. Sandberg et al (196) und De Moor et al (47) stellten die Vermutung auf, daß innerhalb oder an der Zellaußenwand der Erys eine Substanz vorhanden ist, die Cortisol genauso fest wie das Plasmaprotein Transcortin, jedoch mit niedrigerer Kapazität als Transcortin binden kann.

Zwar liegen über den Stoffwechsel von Cortisol und anderen Corticosteroiden in den Erys relativ wenige Befunde vor, doch ergaben die Untersuchungen über die Verteilung der Corticosteroide zwischen Plasma und Erys Hinweise dafür, daß die Erys möglicherweise eine aktive Rolle im Metabolismus dieser Steroide spielen. Zudem wurde berichtet, daß Corticosteroide die Hämolyse hemmen können (76). Dies bedeutet, daß die Steroide in irgendeiner Weise den Stoffwechsel der Erys beeinflußen können.

Nach i.v. Injektion von Cortisol-4-^{14}C untersuchten Kornel et al (132) die Verteilung von Cortisol und seinen Metaboliten zwischen Plasma und den Erys: 2 1/2 Stunden lang post injectionem wurden alle 15-30 Minuten Blutproben entnommen. Die Steroidfraktionen wurden nach einem spe-

zifischen, von Kornel et al entwickelten Verfahren untersucht: "Freie Steroide, polar-freie Steroide, Glucuronidkonjugate, Sulfatkonjugate und weitere Gruppen anderer Konjugate". Nach den verschiedenen Fraktionen wurde zunächst an abzentrifugierten und hämolysierten Erys, dann an Erys, die vor der Hämolyse mit einer salzhaltigen Lösung gewaschen wurden, und zuletzt im Plasma gesucht. Kornel et al (132) stellten Folgendes fest: 1) 14-20% der radioaktiven Blutsteroide waren mit den Erys assoziiert; 2) weniger als die Hälfte dieser Menge war leicht an die Zellen, möglicherweise an die Zelloberfläche gebunden und konnte leicht durch die salzhaltige Lösung ausgewaschen werden. Die Verteilung der verschiedenen freien und konjugierten Steroidfraktionen in der Waschlösung entsprach ungefähr derjenigen des Plasmas; 3) mehr als die Hälfte der Steroide, die mit den Erys assoziiert waren, waren fest an die Zellen gebunden. Sie konnten durch Waschen nicht entfernt werden, sie waren also entweder stark an die Zellmembran gebunden oder befanden sich im Zellinneren. Die Konzentrationen der verschiedenen freien und konjugierten Steroidfraktionen verhielten sich hier ganz anders als im Plasma: 75-85% waren freie Steroide, wobei mehr als 1/3 stärker an Proteine gebunden war als die im Plasma gebundenen Steroide. 15-25% waren in konjugierter Form; 4) die Konjugate bestanden zu 8-14% aus Glucuroniden, 20-26% aus Sulfaten, während der überwiegende Anteil, 62-69%, keiner dieser beiden Fraktionen zugeordnet werden konnte und möglicherweise einer neuen, intrazellulär gebildeten Konjugatform entspricht (132).

Als Schlußfolgerung deuten Kornel et al darauf hin, daß die einzelnen Corticosteroidmetaboliten von den Erys in vivo in unterschiedlichem Ausmaß aufgenommen werden. Ursache hierfür sind möglicherweise unterschiedliche Permeabilitätsgradienten der Zellmembran für die verschiedenen freien und konjugierten Steroide, oder Unterschiede in der Affinität dieser Steroidmetaboliten zur Zellmembran oder anderen Zellbestandteilen. Die Tatsache, daß die Erythrozyten Corticosteroide und ihre Metaboliten aufnehmen und transportieren können, war für Kornel et al (132) ein Hinweis, daß die Erys im Cortisolstoffwechsel eine wichtige Funktion ausüben.

Im Blut findet sich Cortisol in verschiedenen Formen (70), nämlich in Bindung an Transcortin und andere Plasmaproteine, hauptsächlich Albumin, in Assoziation mit den Erythrozyten, sowie in freier Form. Zwischen die-

sen Formen besteht ein Gleichgewicht. Die Konzentration des Cortisols in jeder dieser Fraktionen ist abhängig von der relativen Bindungsaffinität und Bindungskapazität des jeweiligen Proteins und der gesamten Cortisolkonzentration (70). Analoge-Bedingungen gelten auch für andere Steroide. Die Erys weisen gegenüber Albumin und Transcortin eine niedrigere Bindungsaffinität zu Cortisol auf.

Angaben in der Literatur über den Corticosteroid-Anteil der Erys am Gesamtblut bei Säugetieren zeigen große Unterschiede: 87-94% bei Agarwal & Carstensen (3), 0-80% bei De Moor & Steeno (48), 16-37% bei Peterson et al (185), Migeon et al (159), gering oder nicht nachweisbar bei Eik-Nes et al (63). Es ist anzunehmen, daß für diese krassen Unterschiede zum Teil die unterschiedliche Aufnahmekapazität der Erythrozyten der einzelnen Spezies verantwortlich ist.

Zwar wurde deutlich, daß die Erys am Transport von Corticosteroiden und deren Metaboliten mitwirken (132), aber die Frage, ob die Erys die für den Abbau der Corticosteroide verantwortlichen Enzyme besitzen, bleibt trotz einiger Ansätze in der Literatur, wie den Untersuchungen von Philip & Marotta (187) sowie Vermeulen (232), unbeantwortet. Philip & Marotta (187) wiesen nach, daß die Erys des Hundes Cortisol konzentrieren konnten, jedoch nicht die für den Cortisolmetabolismus verantwortlichen Enzyme wie z.B. die Δ^4-3-Keto- und C_{20}-Reduktasen enthielten. Vermeulen (232) inkubierte Erythrozyten mit 4-^{14}C-Cortisol, konnte jedoch in den Chromatogrammen keine Metaboliten nachweisen. Frühere Versuche, mit chromatographischen Verfahren die Corticosteroidmetaboliten der Erys verschiedener Säugerarten (einschließlich Hund) zu isolieren, erbrachten keine Ergebnisse (70)(168).

Möglicherweise können die Erythrozyten Corticosteroide nicht metabolisieren, aber andere Blutbestandteile scheinen diese Fähigkeit zu besitzen. Einen Beweis lieferte ein Versuch von Rongone et al (193). Sie demonstrierten die Reduktion von Cortisol und Cortison an der 4,5 Doppelbindung durch Rinder-Plasmaproteine. Sie inkubierten Rinderalbumin zusammen mit einem Steroid und beobachteten, daß Cortisol und Cortison zu ihren entsprechenden 5ß-Dihydroformen reduziert wurden. Ferner zeigten sie, daß das Rinderalbumin nur unter folgenden Versuchsbedingungen meta-

bolisch aktiv war: pH=6,4, Temperatur im Inkubationsansatz = 37,5°C, Substratkonzentration = 10^{-4}M. Als Kofaktor wurde TPNH benötigt.

Aus anderen Literaturangaben ist bekannt, daß für diese Reaktion die Δ^4-Reduktase verantwortlich ist. Meyer (158) berichtete über die Anwesenheit von Δ^4-Reduktase im Rinderblut. Aus den Versuchen von Rongone et al (193) geht aber nicht klar hervor, welche Beziehung zwischen Albumin und der Δ^4-Reduktase besteht. Beide produzierten die Dihydroformen von Cortisol und Cortison.

Kohler et al (131) perfundierten Rindernebennieren mit oxygeniertem Rinderblut unter Zusatz von Aldosteron. Dabei konnten sie das 3α-Hydroxy-5ß-Isomer des Tetrahydroaldosterons nachweisen. Derselbe Metabolit entstand aber auch bei der Perfusion einer Glaskanüle mit Rinderblut und Aldosteron, also in Abwesenheit von Nebennierengewebe. Dies bestätigte die Ergebnisse von Meyer (158), der die Aktivität einer Δ^4-Reduktase im Rinderblut nachweisen konnte. Außerdem ist für die vollständige Reduktion des A-Ringes im Rinderblut auch die 3α-Hydroxydehydrogenase notwendig.

Das Blut spielt eine entscheidende Rolle im Transport und der physiologischen Aktivität der Corticosteroide und ihrer Metaboliten. Der Transport ist eine wesentliche Voraussetzung für den Stoffwechsel, denn das Blut bringt die verschiedenen Steroide an ihre Zielorgane. Die Metaboliten können aus ihren Zielorganen wieder in den Blutkreislauf zurückdiffundieren, aus dem sie dann allmählich über die Nieren in den Urin ausgeschieden werden. Über den eigenständigen Corticosteroidmetabolismus des Blutes ist bisher zu wenig bekannt. Dies muß Anstoß für weitere Untersuchungen sein.

II - 10) NIERE

Die Untersuchungen über den Corticosteroidmetabolismus der Nieren, deren Funktion sich nicht in der eines Ausscheidungsorgans erschöpft, haben zahlreiche Befunde und Ergebnisse erbracht, die in früheren Abschnitten dieser Arbeit zum Teil bereits erwähnt wurden. Weiteres soll im folgenden Kapitel beschrieben werden.

Hellman et al (108) demonstrierten, daß die menschliche Niere Cortisol zu Cortison oxidieren und, als Umkehrung dieser Reaktion, Cortison zu Cortisol reduzieren kann. Sie markierten Cortisol am C_4 mit ^{14}C, andere Cortisol-Moleküle am C_{11} mit ^3H in α-Position. In kurzen Intervallen nach i.v.-Injektion dieser Mischung unterschiedlich markierten Cortisols, wurden Blutproben aus der Vena brachialis, der Arteria radialis und der Vena renalis entnommen. Die Blutproben wurden anschließend auf Cortisol, Cortison und markiertes Körperwasser (^3H_2O) analysiert. Beweisend für die Oxidation von Cortisol wäre, wenn ^3H am C_{11} des Cortisols fehlen und im Körper als markiertes Wasser (^3H_2O) erscheinen würde. Schon nach zwei Stunden waren etwa 50% des applizierten ^3H im Körperwasser zu finden. Messungen der renalen arteriovenösen Konzentrationsdifferenz von ^3H-markiertem Körperwasser ergaben, daß 10% des in die Körperflüssigkeit gelangten ^3H, der Oxidation von Cortisol durch die 11-Hydroxysteroiddehydrogenase der Nieren entstammte.

Hellman et al (108) beobachteten, daß im gesamten Verlauf des Metabolismus mindestens 50% des in den Blutkreislauf gelangten Cortisols am C_{11} oxidiert werden. Der wahre Wert liegt noch beträchtlich höher als der angegebene Wert, weil der große primäre isotopische Effekt den angegebenen Wert beeinflußt, der durch das Tritium-markierte Hormon erzielt wurde (108). Etwa 10% aller Oxidations- und Reduktionsvorgänge am C_{11} laufen in der Niere ab (108), die zwar nicht Hauptorgan des Cortisolmetabolismus ist, jedoch für die biologische Aktivität des Cortisols von entscheidender Bedeutung ist.

Lange stand die Frage im Vordergrund des Interesses, ob die Niere neben der 11ß-Hydroxydehydrogenase weitere cortisolmetabolisierende Enzyme besitzt, bis Schneider & Horstmann (200) durch Inkubationsversuche die Reduktion der Ketogruppe am A-Ring und die oxidative Abspaltung der Seitenkette von Corticosteroiden nachweisen konnten.

Weitere bedeutende Ergebnisse erzielten Ganis et al (84). Sie zeigten in vitro an Rindernierengewebe, daß die Niere die Fähigkeit besitzt, die Ketogruppe am C_{20} des Cortisolmoleküles zu reduzieren und die Seitenkette des Steroid oxidativ abzuspalten, wobei C_{19} Verbindungen entstehen. Es gelang ihnen auch, diese 17-Ketosteroid-Metaboliten zu isolieren und

zu differenzieren. Dagegen fanden sie keine A-Ring reduzierten Verbindungen.

Die Ergebnisse von Ganis et al (84) widersprachen den Arbeiten von Dorfman & Ungar (55), welche die Ansicht vertraten, daß die Reduktion der Doppelbindung des A-Ringes der Oxidation der Seitenkette vorausgehen muß, damit 17-Ketosteroide entstehen können. Ganis et al (84) zeigten, daß die Reduktion am A-Ring nicht obligate Voraussetzung für die Abspaltung der Seitenkette ist. Ihrer Meinung nach können Adrenosteron und Androstenedion jeweils direkt aus Cortison bzw. Cortisol gebildet werden. Außerdem verlaufe die Oxidation der 11ß-Hydroxy- zur 11-Ketogruppe unabhängig von der oxidativen Abspaltung der Seitenkette, da Cortison und Adrenosteron nebeneinander gefunden wurden (84).

Ganis et al (84) gelang es somit, folgende Metaboliten zu isolieren und zu identifizieren: Δ^4-Pregnen-11ß,17α,20ß,21-Tetrol-3-on (Reichstein Substanz E), Δ^4-Pregnen-17α,21-diol-3,11,20-trion (Cortison), Δ^4-Androsten-11ß-ol-3,17-dion (Androstenedion) und Δ^4-Androsten-3,11,17-trion (Adrenosteron).

Die Niere kann, wie oben beschrieben, Cortisol zu 17-Ketosteroiden abbauen. Manche dieser Abbauprodukte, wie z.B. das aus Cortisol entstandene C_{19}-Steroid (Androstenedion) sind weiterhin aktiv. Sie besitzen noch androgene Eigenschaften, die bestehende prostatische Beschwerden möglicherweise verschlechtern können (84).

Der Stoffwechsel von Aldosteron ist hauptsächlich in der Leber lokalisiert (13)(84)(108). Nur etwa 15% des Aldosterons werden extrahepatisch metabolisiert (24)(26)(77). Kohler et al (131) inkubierten Ratten- und Rindernieren mit Aldosteron-21-Acetat, unter oxygenierten Bedingungen wonach Dihydro- und Tetrahydroaldosteron isoliert werden konnten, was auf die Anwesenheit von Δ^4-Reduktasen und 3α-, ß-Hydroxydehydrogenasesystemen in der Niere hindeutet.

Die beiden wichtigsten Metaboliten des Aldosterons sind das an C_{18} mit Glucuronsäure gekoppelte Aldosteron (sog. 3-Oxo-Konjugat) sowie das an C_3 glucuronierte Tetrahydroaldosteron (162)(206)(217). Während das Tetrahydroaldosteronglucuronid praktisch zu 100% in der Leber gebildet

wird (24)(162) muß man für das 18-Aldosteronglucuronid auf Grund der Versuche von Mann et al (148) an hepatektomierten Hunden und den Experimenten von Bledsoe & Mitarbeitern (24) an Menschen eine bedeutende extrahepatische Produktion annehmen. Sandor & Lanthier (197) demonstrierten, daß Nierengewebsstücke nach der Inkubation mit Aldosteron 18-Aldosteronglucuronid bilden können, was auf die Niere als extrahepatischen Bildungsort dieses Metaboliten hindeutet. Siegenthaler & Mitarbeiter (205) vermuteten dies zunächst auf Grund von Clearancestudien. Deck & Siegenthaler (44) bestätigten diese Ansicht mit Nierenperfusionen in vitro und bei nephrektomierten Hunden. Außerdem gelang es Luetscher & Mitarbeiter (142) dies bei Menschen nachzuweisen.

In Stop-flow-Versuchen an Hunden konnten Deck & Siegenthaler (45) die tubuläre Sekretion von 18-Aldosteronglucuronid im proximalen Tubulus nachweisen, während für Tetrahydroaldosteronglucuronid (THA-glucuronid) nur eine glomeruläre Filtration festgestellt werden konnte.

Möhring, Endres & Siegenthaler (162) führten weitere Stop-flow-Versuche an Hunden durch. Nach der Infusion von 1,2-^{3}H-18-Aldosteronglucuronid konnte, im Gegensatz zur Infusion von freiem 1,2^{3}H-Aldosteron, keine proximale Sekretion von 1,2-^{3}H-18-Aldosteronglucuronid nachgewiesen werden. Sie zogen daraus den Schluß (162), daß in Hundenieren die proximalen Tubuluszellen 18-Aldosteronglucuronid aus Aldosteron bilden und in das Tubuluslumen sezernieren können, während im Nierenarterienblut vorhandenes 18-Aldosteronglucuronid wie der Tetrahydrometabolit des Aldosterons nur glomerulär filtriert und ausgeschieden wird.

II - 11) MAGEN - DARM und MILZ

Nach Balikian (13) ist der Aldosteronstoffwechsel zu 85% in der Leber und zu 15% in der Niere lokalisiert, während andere Organe nur minimale Aktivität zeigen. Die Leber ist aber wahrscheinlich auch das einzige Organ, das THA-Glucuronide produzieren kann. Balikian (13) untersuchte auch Milz und Darm und beobachtete, daß dieser kein THA-Glucuronid bilden konnte, was auf das Fehlen von Glucuronyl-Transferase zurückzuführen ist. Außerdem fehlen die für die Reduktion von Aldosteron verantwortlichen Enzyme (13). In der Literatur ist nichts angegeben, was dafür spricht, daß in der Milz oder dem Darm Aldosteron ähnlich wie in der Niere oder Leber abgebaut werden kann.

Obwohl die Eingeweide, abgesehen von der Leber und der Niere, keinen Mineralocorticoidmetabolismus aufweisen, gibt es Befunde, die dafür sprechen (13)(188), daß diese Organe spezifische Rezeptorproteine für Corticosteroide besitzen. Außerdem gibt es eine Wechselbeziehung zwischen der Existenz dieser Rezeptorproteine und der physiologischen Aktivität des Hormons im betreffenden Gewebe (188). Swaneck et al (218) berichteten über steroidspezifische, im Zellkern und Zytoplasma lokalisierte Rezeptorproteine für Aldosteron in Darm und Milz. Pressley & Funder (188) fanden Rezeptorproteine für Corticosteroide im Magen, Duodenum, Jejunum, Ileum und Kolon. Duodenum und Jejunum wiesen den größten Gehalt auf.

Abgesehen von der Leber, existiert nur wenig Literatur über den Stoffwechsel der Glucocorticoide in den Eingeweiden. Tuzson et al (230) berichteten über die Stoffwechselaktivität der Milz in vitro. Sie demonstrierten, daß bei Hühnern, die an Erythroblastose erkrankt waren, die hypertrophierte Milz doppelt soviel Cortisol wie die gesunde Hühnermilz metabolisieren konnte. Andererseits zeigten Burton (34), Miyabo et al (160) sowie Mahesh & Ulrich (144) an verschiedenen Tierspezies, daß die Eingeweide, mit Ausnahme der Leber und Niere, nur minimale Aktivität besassen.

Möglicherweise spielt ein Teil dieser Organe, nämlich der Gastrointestinaltrakt, doch eine bedeutende Rolle, nicht für den Stoffwechsel selbst, sondern für die Ausscheidung der Steroidmetaboliten. Die Versuche von Jacobson & Kallal (118) an Hundemägen zeigten, daß der Magensaft freie 17-OH-Corticosteroide enthält. Außerdem fanden sie nach chromatographischen Analysen eine dem Tetrahydrocortisol ähnliche Substanz. Nach ihren Untersuchungen beträgt die Konzentration der 17-OH-Corticosteroide im Magensaft etwa 1/3 der Konzentration des Blutes, sowie 1/5 der Urinkonzentration. Auf Grund dieser Ergebnisse wurde der Magen als ein möglicher und zusätzlicher Ausscheidungsweg für Corticosteroide und deren Metaboliten betrachtet.

Die Gallensekretion ist ein weiterer potentieller Ausscheidungsweg (93). Die Metaboliten gelangen in den Dünndarm und können später mit den Faeces ausgeschieden werden.

II - 12) LYMPHATISCHES GEWEBE

Thymus, Appendix und Tonsillen werden als primäre Immunitätsorgane bezeichnet (189). Der Thymus besitzt eine grosse Bedeutung für die Immunität und die Reifung des lymphoretikulären Systems, dem die Lymphknoten, Darmwand, Milz und Knochenmark angehören. Mehrere Autoren versuchten, den Metabolismus der Glucocorticoide in verschiedenen normalen und erkrankten lymphatischen Geweben aufzudecken.

In der Literatur gibt es mehrere Berichte über in vitro Untersuchungen des Glucocorticoidstoffwechsels in Thymozyten bzw. Thymusgewebe. Burton (33) beobachtete die Dehydrogenation am C_{11} und, in geringerem Ausmaß, die Spaltung der Seitenkette, nachdem er den Mäuse-Thymus mit 4-^{14}C-Cortisol inkubiert hatte. Der Mäuse-Thymus konnte Cortisol auch direkt zu 11ß-Hydroxyandrostenedion umbauen. Mahesh & Ulrich (144) fanden Cortisolmetaboliten in verschiedenen Rattengewebeproben. Thymusgewebe konnte minimale Mengen von Cortisol in die entsprechenden 20-Dihydroderivate umwandeln.

Mehrere Autoren untersuchten den Bindungsmechanismus der Corticosteroide im Thymus (1)(7)(30)(122)(198)(203)(207)(208)(236). Augustyn & Brunkhorst (6) konnten Glucocorticoid-spezifische Rezeptorproteine im Zytoplasma und Zellkern der Thymozyten nachweisen.

Zusätzlich untersuchten sie den Stoffwechsel des Corticosterons in Ratten-Thymozyten. Sie fanden, daß das Thymusgewebe nicht wie die Leber das gesamte Enzymspektrum des Glucocorticoidmetabolismus besitzt, sondern konnten nur 11ß-Hydroxydehydrogenaseaktivität nachweisen. In ihren in vitro Versuchen zeigten sie die Umwandlung von Corticosteron zu 11ß-Dehydrocorticosteron durch den Thymus.

In weiteren in vivo Experimenten (6) wurden folgende Metaboliten des Corticosterons identifiziert: Δ^4-Pregnen-21-ol-3,11,20-trion (11ß-Dehydrocorticosteron), Δ^4-Pregnen-11ß,20,21-triol-3-on, 5ß-Pregnan-3α, 11ß,20ß,21-tetrol und 5ß-Pregnan-3α,11ß,21-triol-20-on (Tetrahydrocorticosteron). Nach Vergleich der Metaboliten der in vitro und in vivo Versuche deuteten sie an, daß die drei zuletzt genannten Metaboliten

des Corticosterons möglicherweise nicht im Thymus entstanden waren, sondern wahrscheinlich in der Leber oder einem anderen extrahepatischen Gewebe gebildet und via Blutkreislauf in den Thymus transportiert wurden, wo sie später erfaßt und identifiziert werden konnten. Außerdem fanden Augustyn & Brunkhorst (6) in ihren Chromatogrammen ein radioaktives Areal, das dem des 11ß-Hydroxyandrostenedions entsprach, konnten diesen Metaboliten aber nicht sicher nachweisen, während Burton (33) mit Cortisol statt Corticosteron die oxidative Abspaltung der Seitenkette bereits beobachten konnte.

Burton (33) untersuchte neben dem Mäuse-Thymus auch anderes lymphatisches Gewebe, sowie Tumoren von Maus und Ratte.

Aus Tabelle 15 sind die verschiedenen Gewebearten ersichtlich, die Burton (33) in seinen Versuchen benutzte. Abb. 28 zeigt die Ergebnisse der Inkubation einzelner Gewebe mit Cortisol-4-C^{14}.

Tabelle 15: (33)

Spezies	Linie	Gewebe
Maus	AKR/J	Thymus
Maus	AKR/J	Milz, normal
Maus	AKR/J	Milz, leukämisch
Maus	BALB/c/J	Lymphosarkom P1798S
Maus	BALB/c/J	Lymphosarkom P1798R
Ratte	Fischer	Thymus
Ratte	Fischer	JRC Leukämie
Ratte	Wistar	Chloroleukämie (Chlorom)
Ratte	PA	LK2 Leukämie
Ratte	Fischer	Rhabdomyosarkom
Ratte	Hooded	Rhabdomyosarkom
Ratte	Hooded	Rhabdomyosarkom

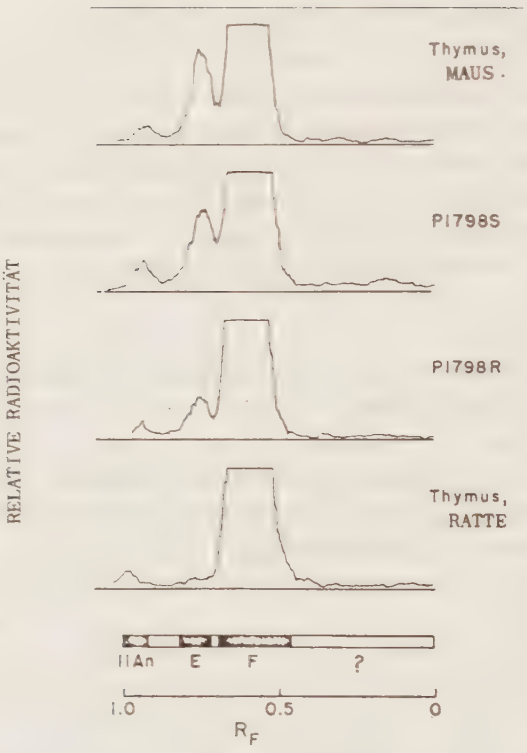


Abb. 28: Chromatographischer Beweis für den Stoffwechsel von Cortisol-4-^{14}C durch normale und maligne Lymphozyten. Die angegebenen Zonen sind: 11-An=11ß-OH-Androstenedion, E=Cortison, F=Cortisol. Skala = 1.000 Counts/Min. (33).

Verglichen nach gleichen Zellvolumina entsprach die Aktivität der malignen Lymphozyten dem Mäuse- und Rattenthymus. Dies ist aus den zwei Fällen von Lymphosarkoma P1798 ersichtlich. Die IRC Leukämie war weniger aktiv, die Chloroleukämie und mehrere Rhabdomyosarkomen zeigten keine Aktivität.

Seine Versuche zeigten, daß sowohl normale, als auch maligne transformierte Lymphozyten der Ratte und Maus, Cortisol metabolisieren konnten. Die Dehydrogenation am C_{11} und die schwächer ausgeprägte Abspaltung der Seitenkette fanden sich nicht nur im Mäuse-Thymus, sondern auch in der normalen Milz und malignen Lymphozyten, einschließlich der lymphatischen Leukämie der AKR Maus, dem P1798 Mäuse-Lymphosarkom, sowohl bei steroidempfindlichen (S) als auch bei steroidresistenten Arten (R) und der lymphatischen Leukämie LK2 bei Ratten. Weniger aktiv waren die LK2 Leukämien, IRC Leukämie und der Ratten-Thymus. Die Chloroleukämie (Chlorom) und mehrere Rhabdomyosarkomen zeigten überhaupt keine metabolische Aktivität.

Hauptmetabolit war Cortison, was auf die Anwesenheit von 11ß-Hydroxydehydrogenase hinweist. Diese Reaktion war in Mäusegeweben intensiver als in Rattengeweben. Außerdem konnte die Abspaltung der C_{17}-Seitenkette an kleinen Mengen von 11ß-OH-Androstenedion nachgewiesen werden. Beim P1798 (S) Tumor und im Rattenthymus wurden minimale Mengen einer hochpolaren Substanz gefunden. Nach der Position im Chromatogramm könnte dies möglicherweise 20-Dihydrocortisol gewesen sein, was Burton wegen der geringen Konzentration jedoch nicht genauer feststellen konnte.

Chang et al (39) untersuchten den Metabolismus von 4-^{14}C Cortison in vitro in cortisonempfindlichen (S) und cortisonresistenten (R) Lymphosarkomen P1798. Sie beobachteten, daß nach mehrtägiger Vorbehandlung dieser Tumoren mit Cortisol, wesentliche Unterschiede in der Kapazität des Cortisonmetabolismus auftraten, während sie sich vor der Steroidbehandlung bezüglich des 4-^{14}C Cortisonmetabolismus nur wenig unterschieden. Nach der Behandlung mit Cortisol konnte festgestellt werden, daß die cortisonempfindlichen Tumoren Cortison effektiver zu Cortisol umwandeln konnten, während die resistenten Neoplasmen besser geeignet waren, Cortison zu 20ß-Hydroxycortison (Reichstein Substanz U) zu metabolisieren. Chang et al (39) vermuteten, daß die Ursache dieser Änderung im Metabolismus von 4-^{14}C Cortison nach der Cortisolapplikation wahrscheinlich in einer Aktivitätsänderung der 11ß-Hydroxydehydrogenase und der 20ß-Hydroxydehydrogenase in beiden Tumorarten zu suchen ist. Außerdem wurden in den chromatographischen Trennungen bei beiden Tumorarten etwa gleiche Mengen von Adrenosteron gemessen. Eine kleine Menge von

11ß-Hydroxyandrostenedion wurde lediglich in dem unbehandelten, cortisonresistenten Tumor gefunden.

Neben dem Befund, daß die beiden Tumorarten nach Cortisolapplikation verschiedene Stoffwechselwege für Cortison aufwiesen, scheint es wichtig, daß auch die Lymphosarkome P1798 über 20ß-Hydroxydehydrogenase verfügten. Die Tatsache, daß die resistenten Arten mehr Reichstein Substanz U produzierten, erklärt vielleicht den Befund, daß Cortison auf das Wachstum dieser Neoplasmen keinen Einfluß zeigt, da Reichstein Substanz U keine Suppressionsaktivität besitzt (39).

Auf Grund des positiven Effektes der Corticosteroide in der Behandlung verschiedener Leukämieformen und ihrer supprimierenden Aktivität auf normales lymphatisches Gewebe (21), richtete sich die Aufmerksamkeit auf den Glucocorticoidstoffwechsel der Leukozyten. Die biochemische Umwandlung von Cortisol durch maligne Lymphozyten wurde von Berliner & Dougherty (20) demonstriert. Forker, Bollinger, Morris & Larson (78) zeigten ebenfalls, daß menschliche Leukozyten imstande sind, Cortisol zu metabolisieren, ohne diese Metaboliten näher zu charakterisieren. Jenkins & Kemp (121) untersuchten den in vitro Metabolismus des Cortisols bei Patienten, die an verschiedenen Formen von Leukämie erkrankt waren und verglichen ihn mit dem Metabolismus normaler Leukozyten (21).

Folgende Metaboliten konnten aus normalen Lymphozyten und polymorphkernigen Leukozyten (Granulozyten) isoliert und identifiziert werden: 20α- und 20ß-Dihydrocortisol, wobei überwiegend das 20ß-Epimer vorhanden war. Außerdem wurde auch Tetrahydrocortisol identifiziert. Granulozyten bildeten mehr THF, obwohl die C_{20} Reduktionsaktivität in beiden Zellformen gleich war. Cortison oder weniger polare Stoffe (C_{19}-Verbindungen) wurden nicht nachgewiesen.

Die Ergebnisse der Inkubationen, die Jenkins & Kemp (121) mit Zellen von Patienten mit akuter lymphatischer und solchen mit akuter myeloischer Leukämie durchführten, entsprachen qualitativ denen von Inkubationen normaler, reifer Leukozyten. Sie konnten an und für sich nur quantitative Unterschiede in der Metabolitenkonzentration gegenüber den Werten normaler Zellen registrieren: z.B. zeigten die Zellen der akuten lympha-

tischen und der akuten myeloischen Leukämie eine vierfach höhere Aktivität in der Reduktion des C_{20}-Ketons und eine doppelt so hohe Aktivität in der Reduktion des A-Ringes im Vergleich zu normalen Leukozyten. Die Zellen der Patienten mit einer chronischen Leukämie lagen in ihrer metabolischen Aktivität zwischen den beiden akuten Formen. Die Transformation normaler Lymphozyten zu den "Blast"-Formen durch Phytohämagglutinin erbrachte keine nennenswerte Erhöhung der metabolischen Aktivität.

Die Untersuchungen von Jenkins & Kemp (121) zeigten, daß die menschlichen Leukozyten Enzyme enthalten, die Cortisol metabolisieren können. Qualitativ zeigten normale und maligne Zellen keine Unterschiede. Quantitativ betrachtet waren die leukämischen Zellen aktiver als reife Lymphozyten oder Granulozyten. Man kann davon ausgehen, daß die malignen Zellen eine höhere Konzentration der für die Reduktion am A-Ring und des C_{20}-Ketons verantwortlichen Enzyme enthalten (121).

Am auffälligsten erscheint der Unterschied im Cortisolstoffwechsel zwischen normalen und malignen Leukozyten und anderen extrahepatischen Geweben. Die Reduktion des C_{20}-Ketons ist in vielen Geweben nachweisbar, nicht jedoch die Reduktion des A-Ringes zu THF. Diese Reaktion ist hauptsächlich in der Leber lokalisiert, ist aber, wie die Ergebnisse von Jenkins & Kemp (121) zeigten, nicht auf die Leber beschränkt, sondern auch in Leukozyten möglich. Ein weiteres Charakteristikum war das Fehlen von Cortison in den Leukozyten-Inkubationen, obwohl in anderen extrahepatischen Geweben gerade dieser Oxidationsvorgang am C_{11} eine wichtige und auch quantitativ ins Gewicht fallende Reaktion im Cortisolstoffwechsel darstellt.

C_{19}-Steroide konnten nicht nachgewiesen werden, obwohl sie in anderen Geweben vertreten sind. Dieser Befund widerspricht Ergebnissen von Dougherty et al (59), welche die Oxidation der 11ß-OH-Gruppe und die Oxidation der Seitenkette des Cortisols in Lymphozyten beobachteten. Burton (33) teilte ähnliche Ergebnisse mit. Allerdings experimentierten diese Forscher hauptsächlich mit Mäuse- und Rattenzellen, sodaß möglicherweise Speziesunterschiede für diese widersprüchlichen Aussagen verantwortlich gemacht werden können (121).

In vivo Untersuchungen von Gallagher et al (82)(83) bestätigten die Ergebnisse von Jenkins & Kemp (121). Sie fanden im Urin von Patienten mit chronischer Leukämie, vorwiegend vom myeloischen Typ, eine gegenüber Normalwerten erhöhte Konzentration von THF.

II - 13) MUSKULATUR

Es gibt Hinweise dafür, daß Corticosteroide auch in der Muskulatur zu finden sind (72)(150) und, daß die Muskulatur ein wichtiges Zielorgan dieser Hormone darstellt. Über den muskulären Corticosteroidstoffwechsel liegen nur wenige Informationen vor. Einige Punkte wurden bereits in früheren Abschnitten dieser Arbeit erwähnt. Der folgende Abschnitt soll eine Übersicht über die übrigen Befunde geben.

Durch in vitro Experimente von De Venuto & Westphal (50) mit quergestreifter Rattenmuskulatur konnte ein gewisser Corticosteroidstoffwechsel in der Muskulatur nachgewiesen werden. Nach der Inkubation von Cortisol-4-^{14}C konnten zwei Steroid-Verbindungen identifiziert werden, unverändertes Cortisol, sowie die am C_{20} reduzierte Reichstein Substanz E, was darauf schliessen läßt, daß in der quergestreiften Muskulatur der Ratte, eine 20ß-Reduktase vorhanden sein muß.

Sweat & Bryson (220) inkubierten Rindermuskulatur (M.psoas major) und Beinmuskulatur der Maus (Bindegewebsanteil 5%) mit Cortisol. Sie fanden mehrere Metaboliten: Cortisol wurde zu Cortison, Dihydrocortisol, Corticosteron, 11ß-Hydroxyandrostenedion (11ß-OHA), Reichstein Substanz E, epi E und U, Dihydrocortison, Kendell's Compound A und Adrenosteron metabolisiert. Der Stoffwechsel des Cortisols zeigte also fünf verschiedene Wege: Spaltung der Seitenkette, Oxidation am C_{11}, Dehydroxylation am C_{17} und Reduktionen am C_{4-5} und C_{20}.

Ein vergleichbares Bild erbrachte die Inkubation von Bindegewebe mit Cortisol. Jedoch zeigte das Bindegewebe für den Cortisolmetabolismus drei- bis vierfach höhere Reaktionsraten als die Muskulatur (220).

Nach Sweat & Bryson (220) war die Oxidation des Cortisols zu Cortison TPN-spezifisch, DPN unterdrückte diese Reaktion. Reduktionen am C_{4-5} und am C_{20} schienen dagegen TPNH-spezifisch zu sein.

In einem anderen Versuch prüften Sweat & Bryson (220) die Reversibilität dieser Reaktion (Cortison ⟶ Cortisol) in Muskel und Leber. Es ergaben sich deutliche Unterschiede. Wurde 4-^{14}C Cortison mit Mäusemuskulatur inkubiert, entstand als Hauptprodukt Reichstein Substanz U; wurde Cortison aber mit Mäuse-Leber inkubiert, entstand vorwiegend Cortisol. Nach Sweat & Bryson ist diese Reaktion (Cortison ⟶ Cortisol) überwiegend in der Leber lokalisiert.

II - 14) BRUSTDRÜSE

Abgesehen von den Arbeiten von Haley, Dimick & Williamson (107) sowie Bailey et al (10) ist bisher über den Corticosteroidstoffwechsel in der menschlichen Brustdrüse nichts Wesentliches bekannt.

Haley et al (107) untersuchten zwölf Fälle von Mammakarzinom, vier Fälle von Fibroadenom und gesundes Brustdrüsengewebe des Menschen. Sie inkubierten Gewebeproben mit Cortisol-4-C^{14} und Corticosteron-4-C^{14}. Die freien Steroide wurden extrahiert und die Metaboliten durch papierchromatographische Verfahren identifiziert. Die Ergebnisse sind in den folgenden Abbildungen und Tabellen zusammengefaßt.

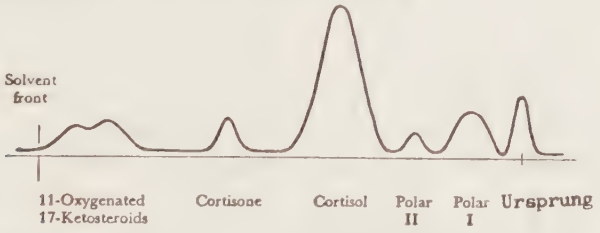


Abb. 29: zeigt in einer idealistischen Darstellung eines Chromatogrammes die Metaboliten von Cortisol-4-C^{14} (107).

Die Substanz mit der höchsten Polarität, die sich vom Ursprung nicht bewegte, war damals noch nicht identifiziert, entspricht aber wahrscheinlich 6ß-OH-Cortisol. Die Metaboliten, die nicht weit vom Ursprung entfernt liegen (Polar I) sind Cortole und Cortolone. Der Gipfel, der mit Polar II beschriftet ist, enthält die Tetrahydro- und 4,5-Dihydroverbindungen oder die am C_{20} reduzierten 3-Keto-Δ^4-Formen. Danach folgen Cortisol und Cortison. Der letzte Gipfel entspricht den 11-oxidierten 17-Ketosteroiden.

Tabelle 16: Metaboliten aus der Inkubation vom menschlichen Brustkrebsgewebe mit Cortisol-4-C^{14} (107).

	Proben											
	1	2	3**	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Prozent C^{14} aus Inkubation zurückgewonnen	60	105	75	35	110	95	90	85	80	55	15	35
Prozent Cortisol metabolisiert	90	85	75	70	55	50	40	25	20	5	*	0
Chromatographische Trennung auf volle 5% auf- bzw. abgerundet												
Ursprung	25	20	10	20	5	20	10	*	*	*	*	
Polar I	50	25	40	15	25		5		*	*		
Polar II		25		10	*		5		*			
Cortisol	10	15	25	30	45	50	60	75	80	95	100	100
Cortison			5		*	15	10	20	10	*		
11-Oxy-17-Ketosteroide ..	15	15	20	25	20		10	5	5			
Nichtkategorierte Kataboliten						15						

* Spur
** Lymphknoten

In Tabelle 16 sind die Ergebnisse der Inkubationen mit Cortisol-4-C^{14} verdeutlicht. In den Tumorproben 4, 11 und 12 wurden 35% oder weniger der inkubierten Radioaktivität als freie Steroide zurückgewonnen; Proben 11 und 12 zeigten keine Cortisol-Biotransformationen. Aus den Tumorproben 1, 3 und 10 wurden 55 bis 75% zurückgewonnen. In den übrigen sechs Proben lagen die Gewinnraten zwischen 80 und 110%.

Der Anteil des Cortisols, der in Metaboliten transformiert wurde, schwankte zwischen 0 und 90%. In vier Proben betrug die Umbaurate zwischen 70 und 90%, fünf Proben lagen zwischen 20 und 55%, bei drei Proben lag die Transformationsquote noch niedriger oder es war überhaupt kein Stoffwechsel nachweisbar.

Als weiteres Ergebnis sind die in verschiedenen, Tumoren entstandenen Metaboliten und ihr jeweiliger prozentualer Anteil dargestellt.Dabei ist besonders auf die beteiligten Enzymsysteme zu achten. In einem Tumor wurden keine freien Steroidmetaboliten gefunden, in zwei weiteren Tumoren waren sie nur in Spuren nachweisbar. 6ß-Hydroxylase Aktivität zeigte sich in elf Proben, wobei sich die Metaboliten nicht vom Ursprung wegbewegten. Acht Mammakarzinome produzierten stark polare, reduzierte Metaboliten, wofür die 20-Reduktase verantwortlich ist. Fünf Karzinomen zeigten 4,5 Reduktase-Aktivität. Sieben produzierten Cortison, was auf die Gegenwart von 11-OH-Dehydrogenase zurückzuführen ist. Auch Bailey et al (10) beobachteten in einem anderen Versuch, daß Brustdrüsengewebe 11ß-Hydroxydehydrogenase enthält. C_{17-21}-Desmolase (Lyase) war in den acht Proben vorhanden, in denen 17-Ketosteroide nachgewiesen wurden.

Die Fibroadenome (s. Tab. 17) zeigten sehr hohe Rückgewinnraten. Zwischen 30 und 50% der inkubierten Hormonmenge wurden zu Metaboliten umgebaut.

Tabelle 17: Metaboliten aus der Inkubation von menschlichen Fibroadenomen mit Cortisol-4-C^{14} (107).

	Proben			
	13	14	15	1
Prozent C^{14} aus Inkubation zurückgewonnen	105	95	95	85
Prozent Cortisol metabolisiert	50	45	30	30
Chromatographische Trennung - auf volle 5% auf- bzw. abgerundet				
Ursprung	20	10	*	*
Polar I		5	*	*
Polar II		5		
Cortisol	50	55	70	70
Cortison	10	5	10	20
11-Oxy-17-Ketosteroide	20	20	15	5

* Spur

Die Inkubationen mit Corticosteron-4-C^{14} und deren Ergebnisse sind mit denen von Cortisol vergleichbar (s. Tab. 18). Von den zwölf Mammakarzinomen zeigten zwei keine Gipfel am Ursprung, bei drei weiteren waren sie nur schwach ausgeprägt. Fünf hatten einen unterschiedlich großen Polar I Gipfel, sieben wiesen 4,5-Reduktase-Aktivität auf, drei produzierten Dehydrocorticosteron.

Tabelle 18: Metaboliten aus der Inkubation vom menschlichen Brustkrebsgewebe mit Corticosteron-4-C^{14} (107).

	Proben											
	2	3**	1	11	10	7	4	6	5	8	12	9
Prozent Corticosteron metabolisiert	85	75	75	50	45	40	20	15	10	10	5	5
Chromatographische Trennung auf volle 5% auf- bzw. abgerundet												
Ursprung	15	15	20			5	*	5	5	5	*	*
Polar I		40				15		5		5		*
Polar II		20	50	50	45			5		*	5	*
Corticosteron	15	25	25	50	55	60	80	85	90	90	95	95
Dehydrocorticosteron	5				*	20	20			*		
Nichtkategorierte Kataboliten	65		5						5		*	

* Spur ** Lymphknoten

Die drei mit Corticosteron inkubierten Fibroadenome zeigten nur Gipfel am Ursprung, außerdem A-Ring-Reduktionen (s. Tab. 19).

Tabelle 19: Metaboliten aus der Inkubation von menschlichen Fibroadenomen mit Corticosteron-4-C^{14} (107).

	Proben		
	14	16	13
Prozent Corticosteron metabolisiert	25	10	5
Chromatographische Trennung - auf volle 5% auf- bzw. abgerundet			
Ursprung	10	5	5
Polar I			
Polar II	15	5	*
Corticosteron	75	90	95
Dehydrocorticosteron ..			

* Spur

Die Tumoren unterschieden sich mehr oder weniger in ihrer Fähigkeit, Cortisol und Corticosteron zu metabolisieren. Hierbei gab es nicht nur quantitative, sondern auch qualitative Unterschiede, wie z.B. zwischen Mammakarzinomen und Fibroadenomen.

Haley et al (107) konnten außerdem zeigen, daß Krebsgewebe metabolisch aktiver als normales Gewebe war. Von den Patienten 5 und 1 wurde sowohl malignes als auch normales Brustdrüsengewebe analysiert. Das normale Brustdrüsengewebe beider Patienten zeigte keinen Corticosteronstoffwechsel, lediglich Spuren eines hochpolaren Stoffes, der sich nicht vom Ursprung wegbewegte. Der Tumor der Patientin 5 metabolisierte nur 10% des zugesetzten Corticosterons, die Hälfte davon in einen Metaboliten, der am Ursprung lokalisiert war, die andere Hälfte in einen durch 4,5- und 20-Reduktasenaktivität entstandenen Metaboliten. Abb. 30 zeigt das Ergebnis bei Patientin 1: Hier konnte der Tumor 75% des Corticosterons metabolisieren, hauptsächlich mit Hilfe der 4,5-Reduktase. Auch kleine Mengen anderer Metaboliten wurden erfaßt.

Wurde normales Brustdrüsengewebe von Patientin 5 mit Cortisol inkubiert, wurden weniger als 5% des Hormons in solche Metaboliten umgewandelt, die

6ß-Hydroxylase-Aktivität anzeigen. Der Tumor dieser Patientin (Abb. 31) metabolisierte mehr Cortisol als Corticosteron, von dem 55% in verschiedene Metaboliten umgebaut wurden.

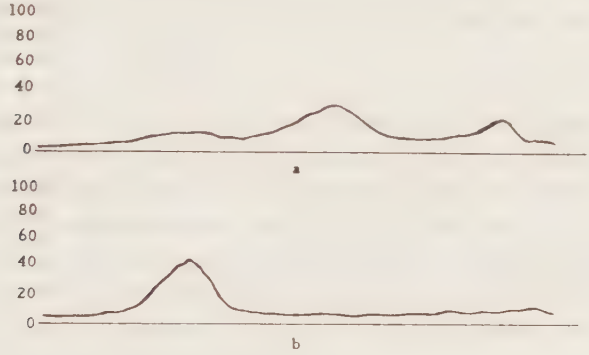


Abb. 30: Der Vergleich des Corticosteronmetabolismus bei Patientin 1 zeigt beim Brustkrebs mehr Enzymaktivität (a) als bei normalem Brustdrüsengewebe (b) (107).

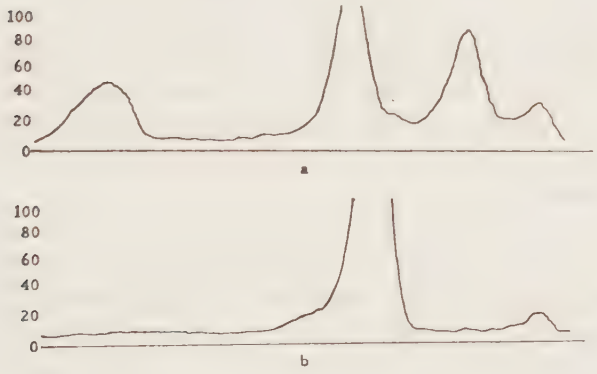


Abb. 31: Der Vergleich des Cortisolmetabolismus bei Patientin 5 zeigt beim Brustkrebs mehr Enzymaktivität (a) als bei normalem Brustdrüsengewebe (b) (107).

Im gesunden und tumorösen Brustdrüsengewebe von Patientin 1 wurden 90% des Cortisols metabolisiert. Aber auch hier gab es Unterschiede zwischen dem normalen und dem tumorösveränderten Gewebe: 75% der Metaboliten des normalen Gewebes entstanden durch C_{17-21}-Desmolase-Aktivität, während 75% der Metaboliten des Tumors Produkte der 20-Reduktase und 6ß-Hydroxylase waren.

Diese Ergebnisse von Haley et al (107) zeigen, daß nicht alle menschlichen Brusttumoren Corticosteroide in vitro metabolisieren können. Außerdem wurde festgestellt, daß verschiedene Tumoren Enzymsysteme enthalten, die dasselbe Hormon in unterschiedlicher Weise metabolisieren. Verschiedene Corticosteroide werden auch durch denselben Tumor unterschiedlich metabolisiert. Maligne Tumoren zeigen gegenüber benignen Tumoren eine größere Vielfalt im Corticosteroidmetabolismus.

II - 15) NEBENNIERENRINDE

Die Corticosteroide werden in der Nebennierenrinde produziert, aber darüber hinaus auch durch Enzymreaktionen an verschiedenen Stellen des Moleküles verändert (119). Wie bereits erwähnt, enthält die Nebenniere Δ^4-5α-Reduktase, unter deren Wirkung 5α-Pregnane (Allo-Formen) entstehen. Aus Abbildung 4 war zu erkennen, daß es für Cortisol möglicherweise auch eine Δ^4-5ß-Reduktase gibt, aber neben dieser Abbildung finden sich in der Literatur keine weiteren Hinweise für die Präsenz dieses Enzyms in der Nebenniere.

Außer der Reaktion mit der Δ^4-5α,ß-Reduktase gibt es eine Reihe anderer Reaktionen. Jenkins (119) demonstrierte in vitro, nachdem er menschliche Nebennieren mit 4-^{14}C Cortisol inkubiert hatte, daß die Nebennierenrinde mehrere Enzymen enthält, die Cortisol weiter umwandeln können.

Der interessanteste Befund war die Darstellung eines 2α-OH-Cortisols, dessen Vorkommen beim Erwachsenen nicht bekannt war, während es von Ulstrom et al (231) mehrmals im Urin Neugeborener nachgewiesen werden konnte. Dieser Befund ist wichtig, weil die normale hepatische Aktivität beim Neugeborenen noch nicht voll ausgeprägt ist. Jenkins (119) verglich an Hand seiner Ergebnisse die Enzym- und Metabolitenkonstellation

der Nebennierenrinde mit jener der Leber beim erwachsenen Menschen und fand, daß die 2α-Hydroxylation des Cortisols allein in der Nebennierenrinde zu finden war.

Das stärkste polare Steroid, das Jenkins (119) in der Nebenniere fand, war 6ß-OH-F. Diesem Metaboliten war schon früher viel Aufmerksamkeit gewidmet worden: Katz et al (125) beobachteten, daß 6ß-OH-F die größte Fraktion der nicht-konjugierten Metaboliten im Urin des Menschen darstellt. Touchstone et al (224) zeigten, daß die Nebenniere 6ß-OH-F in vitro synthetisieren konnte. Auch Lipman et al (139) konnten demonstrieren, daß dieser Metabolit in der NNR in vitro gebildet werden kann, aber darüber hinaus zeigten sie, daß in der Leber weitaus mehr Cortisol am C_6 hydroxyliert wird, als in der Nebenniere. Jenkins (119) verglich die Nebennierenrinde mit der Leber bezüglich der 6ß-Hydroxylation des Cortisols und bestätigte Lipman's Beobachtungen.

Nach der Inkubation von Cortisol war Cortison quantitativ betrachtet der Hauptmetabolit in der Nebennierenrinde (119). Eine weitere Beobachtung von Jenkins (119) war die Reduktion am C_{20} des Cortisol- und Cortisonmoleküls, wobei die 20-Dihydroderivate (20-Dihydro F und E) dieser Steroide entstehen. Jenkins gelang es auch, die α- und ß-Epimere des 20-Dihydrocortisols zu trennen und zu identifizieren. Die Epimere des 20-Dihydrocortisons konnten nicht nachgewiesen werden.

Neben Cortisol und Cortison kann auch Corticosteron in der Nebennierenrinde umgewandelt werden. Wie Abbildung 7 zeigt, kann Corticosteron am C_6, C_{19} und C_{18} hydroxyliert werden (28). Die 5α-Reduktase reagiert auch mit Corticosteron und ist für die Bildung der Allo-Formen des Corticosterons verantwortlich (28). Corticosteron wird in der Nebennierenrinde zum Teil am C_{11} oxidiert (210). Diese Reaktion ist umkehrbar. Das 11-Dehydrocorticosteron wird ebenfalls wie Corticosteron 6ß-hydroxyliert, im A-Ring und am C_{20} reduziert (28)(210).

Die Nebennierenrinde enthält eine Reihe von Enzymsystemen, welche die Umwandlung oder den Umbau von Cortisol, Cortison und Corticosteron katalysieren: 11ß-Hydroxydehydrogenase, 20α-, ß-Dehydrogenasen, 2α-, 6ß-, 18- und 19-Hydroxylasen und Δ^4-5α-, ß-Reduktasen. Ob auch die Δ^4-5ß-

Reduktase in der Nebennierenrinde zu finden ist, ist noch ungeklärt. Die 2α-Hydroxylase scheint nur auf Cortisol, die 18- und 19-Hydroxylasen nur auf Corticosteron zu wirken. Die übrigen Enzyme können mit allen drei Substraten reagieren (28).

Die Biosynthese von 11ß-Hydroxy-androst-4-ene-3,17-dion (11ß-OHA) verläuft in der NNR über mehrere Vorstufen (116). Wegen der grossen strukturellen Ähnlichkeit zwischen Cortisol und 11ß-OHA haben mehrere Untersucher die Frage gestellt, ob Cortisol möglicherweise eine dieser Vorstufen ist (9)(49)(115)(178). Die C_{17-21} Desmolase oder Lyase, die für die Umwandlung von Cortisol zu 11ß-OHA verantwortlich ist, wurde von mehreren Autoren in verschiedenen Geweben beobachtet.

Durch in vitro Experimente von Hudson et al (116) mit Rinder-Nebennierenrinde konnte ebenfalls die Oxidation von Cortisol zu 11ß-OHA durch die C_{17-21} Lyase nachgewiesen werden, was darauf schließen läßt, daß dieses Enzym auch in der Nebennierenrinde zu finden ist. Außer an Rinder-Nebennierenrinden konnte auch an menschlichen Nebennieren in vivo (9)(49)(115) und in vitro (9)(115)(178) die Biosynthese von 11-Hydroxyandrostenedion aus Cortisol demonstriert werden.

Neben den Glucocorticoiden können auch Mineralocorticoide wie Aldosteron durch die NNR umgebaut werden. Kohler et al (131) perfundierten Rinder-NNR und andere Gewebeproben wie menschliche Plazenta und Ratten-NNR mit Aldosteron 21-Acetat unter oxygenierten Bedingungen. Es gelang ihnen, die Dihydro- und Tetrahydroformen des Aldosterons darzustellen.

II - 16) PLAZENTA

Auch die menschliche Plazenta kann Corticosteroide in ihrer biochemischen Struktur ändern. Wie schon erwähnt, haben Lipman et al (139) die 6ß-Hydroxylation von Cortisol nicht nur in der Leber, Nebennierenrinde, Niere und dem Muskel, sondern auch in der menschlichen Plazenta beobachtet. Zusätzlich fanden Meigs et al (157), daß die plazentaren Mikrosomen wie die Leber-Mikrosomen 3α-Hydroxy- und 11ß-Hydroxydehydrogenase-Aktivität besitzen, wobei als Kofaktoren die Pyridin-Nucleotide benötigt werden. Ein weiteres Enzym, das in der Plazenta zu finden war, ist die 20-Hydroxy-

dehydrogenase (157). Meigs et al (157) konnten außer der 3α-OH, 11ß-OH und den 20-OH Dehydrogenasen keine weiteren Enzyme nachweisen, sodaß die Frage, ob auch eine Δ^4-Reduktase vorhanden ist, bisher ungeklärt ist, obwohl Kohler et al (131) schon über A-Ring-reduzierte Verbindungen in der Plazenta berichteten.

II - 17) SPEICHELDRÜSEN

Als letztes Gewebe werden die Speicheldrüsen behandelt: Nach Greaves & West (97) sowie Bailey et al (10) enthalten die Speicheldrüsen 11ß-Hydroxydehydrogenase. Diese Untersucher verglichen die Konzentration von freiem Cortisol und Cortison im Plasma und im Speichel, nachdem sie einem Patienten radioaktives Cortisol per os zugeführt hatten. Sie beobachteten, daß die Konzentration von Cortison im Speichel etwa doppelt so hoch war, wie die des freien Cortisons im Plasma. Die ständige Verminderung der Konzentration von Cortisol im Plasma und die erhöhte Konzentration von Cortison im Speichel deuteten darauf hin, daß Cortisol im Zeitraum zwischen dem Übertritt aus dem Plasma in die Speicheldrüse und der Sekretion des Speichels zu Cortison oxidiert wurde. Den experimentellen Befunden entsprechend, müssen wohl die Speicheldrüsen Ort dieser Oxidation sein.

Ferguson et al (74) demonstrierten durch in vitro Versuche mit Cortisol und Speicheldrüsen (G.submandibularis, G.sublingualis, G.Parotis) von verschiedenen Säugetieren, daß alle Drüsen in ihren Gängen 11ß-OH-Dehydrogenase enthielten. Ihre Ergebnisse sind in Tabelle 20 zusammengefaßt. Mit einer standartisierten histochemischen Technik (Formazan) für Hydroxydehydrogenasen gelang es ihnen, zu zeigen, daß dieses Enzym in den gestreiften, intralobulären und interlobulären Ausscheidungsgängen vorhanden ist.

Tabelle 20: Ablagerung von Formazan in Abschnitten des Speicheldrüsen-Epithels, das mit Cortisol inkubiert war (74).

	Submandibularis	Sublingualis	Parotis
Maus	+	Spur	+
Ratte	++	+	+++
Hamster	+	+	+
Meerschweinchen	++	++	+++
Hase	Spur		+
Katze	+	-	-
Hund	+	Spur	++
Schaf	Spur		+
Schwein	+		++
Rind	+	-	-

+++ = Starke Ablagerung von Formazan

++ = mäßig starke Ablagerung

\+ = leichte Ablagerung

\- = keine Ablagerung

In den Ratten-Speicheldrüsen schien die 11ß-OH-Dehydrogenase-Aktivität mehr auf die serösen als auf die mukösen Drüsen verteilt zu sein, aber dieser Befund war bei den verschiedenen Spezies nicht konstant. Deshalb vertraten Ferguson et al die Ansicht, daß es Speziesunterschiede im Cortisolmetabolismus der Speicheldrüsen gibt.

III - ZUSAMMENFASSUNG

In der Einleitung wird dargestellt, daß der Stoffwechsel der Corticosteroide auch in Geweben außerhalb der Leber repräsentiert ist, obwohl bekanntlich diese eine überragende Rolle bei den katabolen Vorgängen übernimmt. Durch zahlreiche Versuche in vivo und in vitro (16)(17)(34)(84)(95)(117)(120)(139)(144)(160)(219)(229) u.a., war es möglich, den extrahepatischen Stoffwechsel von Gluco- und Mineralocorticoiden nachzuweisen. Die vorhandene Literatur wird hiermit erstmalig zusammengefaßt und eine Übersicht über den extrahepatischen Stoffwechsel der wichtigsten Corticosteroide (Cortisol, Cortison, Corticosteron und Aldosteron) gegeben. Dabei werden qualitative und quantitative Unterschiede des extrahepatischen Corticosteroidstoffwechsels sowohl in normalen als auch in einer Reihe pathologischen Geweben von mehreren untersuchten Säugetieren berücksichtigt.

Als Voraussetzung zum Verständnis des extrahepatischen Stoffwechsels der wichtigsten Corticosteroide werden zuerst die biochemischen Grundlagen abgehandelt. Die biologisch aktiven Corticosteroide besitzen eine Δ^4-3-Ketogruppierung, die für ihre biologische Wirkung wichtig ist (126)(223). Für die Glucocorticoid-entzündungshemmende Wirkung sind zudem die folgenden Gruppierungen nötig: 11-Keto oder 11ß-OH und 17α-OH. An bestimmten Stellen des Steroidgerüstes vollzieht sich der Stoffwechsel von Gluco- und Mineralocorticoiden durch eine Serie von Oxidations-Reduktions-Reaktionen. Für diese Reaktionen werden bestimmte Pyridinnucleotide als Kofaktoren wie z.B. TPN, TPNH, NADP, NADPH usw. benötigt. Während des Umwandlungsvorganges verlieren diese Steroide qualitativ oder quantitativ ihre ursprüngliche biologische Aktivität, können aber unter Umständen dabei eine andere Funktion gewinnen. Ein Beispiel hierfür wäre die Umwandlung von Cortisol, ein Glucocorticoid, in ein C_{19}-Steroid (Androstenedion), das weiterhin aktiv ist und gewisse androgene Eigenschaften besitzt (84). Ein anderes Beispiel ist die Umwandlung von Cortisol zu Corticosteron (16)(19)(220), die stärkere Mineralocorticoide Eigenschaften besitzt als das Ausgangssteroid. Weiterhin kann ein biologisch inaktiver Metabolit in ein aktives Steroid umgewandelt werden, wie es bei der Reduktion von Cortison zu Cortisol der Fall ist (92). Daraus kann man schließen, daß nicht nur das unveränderte Steroid, sondern auch manche ihrer Metaboliten für die biologische Wirkung mitverantwortlich sind. Der Umwandlungsvorgang von einem Steroidhormon zu einem anderen durch Zellen außer denjenigen, die

für die Biosynthese verantwortlich sind, wurde von mehreren Autoren als Biotransformation bezeichnet.

Unter dem Einfluß von Enzymen wird ein Teil des Cortisols oxidiert und in Cortison umgewandelt, wobei das Gleichgewicht unter normalen Bedingungen gering zugunsten des Cortisons verschoben ist. Unter geeigneten Bedingungen kann Cortison wieder zu Cortisol reduziert werden. Die Tetrahydroderivate, sowie Cortole und Cortolone stellen den größten Anteil der Cortisolmetaboliten dar. Etwa 5-10% des Cortisols und Cortisons werden durch oxidative Abspaltung der Seitenkette weiter zu 17-Ketosteroide abgebaut. Beim gesunden Menschen stellt das 6ß-OH-Cortisol einen relativ unbedeutenden Metaboliten dar, spielt jedoch beim Kleinkind und bei der Spätgestose eine Rolle (206).

Corticosteron unterliegt dem Cortisol analogen metabolischen Umbauvorgängen. Sein Abbau führt in erster Linie zur Bildung von Tetrahydroderivaten.

Die 3α, 5ß-Tetrahydroform des Aldosterons wird überwiegend produziert.

Die Gluco- und Mineralocorticoide können als Sulfate, Glucuronide oder als freie Metaboliten im Urin ausgeschieden werden. Um leichter harngängig zu werden, werden sowohl die 17-Ketosteroide (C_{19}) als auch die Tetrahydrometaboliten, sowie die Cortole und Cortolone mit Glucuronsäure, oder-in geringem Ausmaß-mit Schwefelsäure konjugiert. Durch <u>in vitro</u> Untersuchungen konnte die Bildung von Konjugaten außer in der Leber noch in der Nebennierenrinde, der Niere, dem Ovar, dem Testis, dem Darm und der Plazenta nachgewiesen werden (201). Biologisch aktive Metaboliten gelangen nur in geringem Umfang in den Urin. Die Konjugation von Corticosteroidmetaboliten zu inaktiven Verbindungen wird allgemein als terminaler Schritt des Stoffwechsels angenommen. Dies trifft wohl nur für die Glucuronide zu. Corticosteroid-Sulfat-Konjugate sind möglicherweise weiterhin biologisch aktiv (28) und unterliegen einem weiteren Stoffwechsel (201).

Die Nieren stellen beim Menschen das Hauptausscheidungsorgan dar, eine begrenzte Ausscheidung ist auch über die Galle, den Speichel und den Magensaft möglich.

Ohne die Einführung spezifischer Versuchsmethoden hätten die bisherigen Ergebnisse nicht erzielt werden können. Die Einführung von radioisotopmarkierten Corticosteroiden und ihr Nachweis in Blut-, Urin- oder Gewebsproben in vivo und in vitro durch chromatographische Trennungs- und szintillatorische Zählverfahren ermöglichte die qualitative und quantitative Bestimmung der freien Corticosteroide und ihrer entsprechenden Metaboliten. Obwohl bei den einzelnen Autoren Unterschiede in der Anwendung und Zusammensetzung der für die Chromatographie benötigten Systeme vorhanden waren, gab es immer drei erforderliche Vorgänge: Die Extraktion vom Versuchsmedium, die Reinigung der freien und konjugierten Steroide und ihre chromatographische Trennung.

Andere Methoden beruhten auf einer kolorimetrischen Bestimmung der Corticosteroide. Die Porter & Silber Reaktion kann Cortisol, Cortison und deren Tetrahydroderivate mit einer gelben Farbreaktion erfassen. Die Cortole und Cortolone, ebenso eine Reihe anderer Vorstufen und Abbauprodukte, die nicht nur aus den Nebennieren, sondern auch aus den Gonaden stammen (206), werden durch die entwickelte Methode von Norymberski & Mitarb. mit Hilfe der Zimmerman-Reaktion kolorimetrisch bestimmt. Durch die fluorimetrischen Methoden von Silber & Anderen können mit Hilfe des Farrand-Fluorimeter die beiden 11ß-Hydroxycorticosteroide Cortisol und Corticosteron nachgewiesen werden (28)(206). Eine weitere Methode Corticosteroide zu analysieren, ist die Gaschromatographie (28).

Im folgenden Abschnitt wird die Verteilung der Corticosteroide im Körper und ihren Stoffwechsel in den einzelnen Geweben abgehandelt. Zwischen dem freien Anteil der Corticosteroide im Plasma und der ins Gewebe diffundierten Menge besteht ein Fließgleichgewicht (86). Die Zellen der einzelnen Gewebe unterscheiden sich in ihrer Fähigkeit und Empfindlichkeit, Corticosteroide aufzunehmen und abzubauen. Außerdem variiert die Zahl der spezifischen Rezeptorproteine für Corticosteroide, was ebenfalls für die unterschiedliche Körperverteilung der Corticosteroide spricht (2)(25)(51)(80)(199). Es wird gezeigt, daß Gewebssteroide nicht nur am Stoffwechsel des Gewebes teilnehmen, sondern auch ein sogenanntes "peripheres Hormondepot" bilden (71). Die Steroidverteilung weist außerdem auf die Möglichkeit hin, daß die Gewebe nicht nur eine passive Hormonaufnahmefähigkeit besitzen, sondern die vom Blut aufgenommenen Steroide ent-

sprechend der spezifischen Funktion des einzelnen Gewebes transformieren und speichern können (71). Der schnelle Übergang der Corticosteroide aus der Blutbahn in die Gewebe ist nicht allein durch den enzymatischen Abbau, sondern auch durch die Bildung eines Steroid-Rezeptor-Proteinkomplexes zu erklären (73).

Es hat den Anschein, daß die extrahepatischen Zellen mehrerer Säugetiere in der Lage sind, Corticosteroide zu metabolisieren. Im Stoffwechsel der Corticosteroide bestehen deutliche Unterschiede zwischen den verschiedenen Spezies. So ist in der Rattenniere die Oxidation von Cortisol zu Cortison der Hauptreaktionsweg (144), was auch bei Untersuchungen an menschlichen Geweben bestätigt werden konnte (120), während in der Rinderniere die Reduktion am C_{20} der wichtigere Reaktionsweg ist (84). Demnach variiert die Aktivität der renalen 11ß-OH-Dehydrogenase von Tier zu Tier. Außerdem zeigen verschiedene Zellen des gleichen Säugetieres quantitative und qualitative Unterschiede in der Kapazität, Steroide zu metabolisieren. So sind die Hepatozyten die aktivsten, gefolgt von den Nierenzellen. Bei den meisten extrahepatischen Geweben stand die Oxidation von Cortisol zu Cortison im Vordergrund, gefolgt von der Oxidation der Seitenkette. Hier war die Niere am aktivsten. Die Reduktion von Cortison zu Cortisol kommt neben der Leber auch in einer Reihe anderer Gewebe wie z.B. des Synovialgewebes (234)(235), der Lunge (92)(130)(209)(213), der Niere (120) und der Nebennierenrinde (210) vor. Etwa 10% aller Oxidations- und Reduktionsvorgänge am C_{11} laufen in der Niere ab (108), die zwar nicht Hauptorgan des Cortisolmetabolismus, jedoch für die biologische Aktivität des Cortisols von entscheidender Bedeutung ist. In der Synovia entstehen im wesentlichen 17-Ketosteroide. Neben der Oxidation der 11-Hydroxylgruppe ist auch die Reduktion des C_{20}-Ketons in fast allen Geweben nachweisbar. Weitere Reduktionen, die zu den Tetrahydro- und Allo-Tetrahydroformen der wichtigsten Corticosteroide führen, kommen neben der Leber, auch in anderen Geweben, wie z.B. in der Haut (113), der Niere (131)(214), der Nebennierenrinde (71)(131), den Leukozyten (121), usw. vor.

Die 6ß-Hydroxylation ist nicht nur auf die Nebennieren beschränkt, sondern ist auch in der Leber, Niere, Plazenta und der quergestreiften Muskulatur zu finden (139). Die Leber ist am aktivsten, gefolgt von der Nebenniere, die letztgenannten Organe sind weniger aktiv.

Außerdem wurden kleine Mengen des hochpolaren 6ß-OH-20ß-Dihydrocortisols aus den Nebennieren des Hundes isoliert (160). Dieser Metabolit wurde bis jetzt nur im menschlichen Schwangerschaftsurin (52), Liquor Amnii (135) und im Urin von Patienten mit Cushing Syndrom (53)(87) gefunden. In vivo Untersuchungen bei Cushing-Syndrom-Patienten ergaben, daß ein Teil dieses Metaboliten möglicherweise im Plasma aus 20ß-Dihydrocortisol gebildet werden kann (53)(87).

Ein bedeutender Befund war die Darstellung eines 2α-OH-Cortisols, dessen Vorkommen beim Erwachsenen nicht bekannt war, während es mehrmals im Urin Neugeborener nachgewiesen werden konnte (231). Dieser Befund ist wichtig, weil die normale hepatische Aktivität beim Neugeborenen noch nicht voll ausgeprägt ist. Daraus kann man schließen, daß es extrahepatisch gebildet wird. Bei Vergleich der Ergebnisse der Enzym- und Metabolitenkonstellation der Nebennierenrinde mit jener der Leber beim Erwachsenen wird deutlich, daß die 2α-Hydroxylation des Cortisols ausschließlich in der Nebennierenrinde zu finden ist (119). Außer der 2α-Hydroxylase befinden sich auch die 18- und 19-Hydroxylasen in der Nebennierenrinde.

Während die Leber hauptsächlich für die Konjugation der Corticosteroidmetaboliten verantwortlich ist, gibt es zahlreiche Beweise dafür, daß die Konjugation mit Glucuronsäure oder Schwefelsäure extrahepatisch zustande kommen kann. Viele der erwähnten Gewebe, vor allem die Niere, enthalten die wichtigen Enzymsysteme, die eine Konjugation möglich machen. Während das Tetrahydroaldosteronglucuronid praktisch zu 100% in der Leber gebildet wird (24)(162), muß man für das 18-Aldosteronglucuronid auf Grund der Versuche an hepatektomierten Hunden (148) und den Experimenten an Menschen (24) eine bedeutende extrahepatische Produktion annehmen. Es wird demonstriert, daß Nierengewebsstücke nach der Inkubation mit Aldosteron 18-Ald-glucuronid bilden können; das deutet auf die Niere als extrahepatischen Bildungsort dieses Metaboliten hin (197).

Von allen Zellen sind die Erythrozyten die einzigen, die keine metabolische Aktivität aufweisen. Obwohl sie die notwendigen Enzym-Systeme nicht besitzen, sind ihnen bedeutende Transportfunktionen zuzuschreiben. Möglicherweise können die Erythrozyten Corticosteroide nicht metabolisieren, andere Blutbestandteile jedoch scheinen diese Fähigkeit zu besitzen. Es

wird demonstriert, daß Cortisol und Cortison an der 4,5 Doppelbindung durch Rinder-Plasmaproteine reduziert werden können (193). Über die Anwesenheit einer Δ^4-Reduktase im Rinderblut wird weiterhin berichtet (158).

Wenn das physiologische und biochemische Milieu der Zellen beträchtlich verändert wird, wie es bei einer Krankheit der Fall ist (z.B. Linsentrübung, Akne vulgaris der Haut, arthritische Erkrankungen des Knies oder eine Malignität eines Gewebes), können die Steroiden anders als bei normalen Verhältnissen metabolisiert werden. Während das Ausmaß der Glucuronidkonjugation bei katarakterkrankten Linsen dem gesunder Linsen entsprach, war die Sulfatkonjugation deutlich geringer ausgeprägt; das ist auf eine Änderung der biochemischen Zusammensetzung der Linse, vor allem ihrer Proteine zurückzuführen (172). Die Aktivität einiger Dehydrogenasen, die in den menschlichen Talgdrüsen zu finden sind, ist im Bereich Akne-befallener Hautareale deutlich gesteigert (11). Eine hohe Enzymaktivität ist bei gesunden und osteoarthritisch erkrankten Knieen, eine verminderte bei der rheumatoiden Arthritis registriert worden (66-68). Maligne Zellen von verschiedenen Gewebstypen zeigen eine wesentlich höhere metabolische Aktivität im Vergleich zu normalen Zellen. Außerdem werden unterschiedliche Metaboliten gebildet. Maligne Tumoren weisen gegenüber benignen Tumoren eine größere Vielfalt im Corticosteroidmetabolismus auf. Es wird festgestellt, daß verschiedene Tumoren Enzymsysteme enthalten, die dasselbe Hormon in unterschiedlicher Weise metabolisieren. Verschiedene Corticosteroide werden auch durch denselben Tumor unterschiedlich metabolisiert. Der Vergleich der unterschiedlichen histologischen Typen eines Lungenkrebses zeigt, daß die Kapazität des Corticosteroidmetabolismus umgekehrt proportional zum Differenzierungsgrad des Tumors ist. Lymphoid-Zellen zeigen ein ähnliches Phänomen (21)(60).

Der extrahepatische Stoffwechsel der Corticosteroide ist wie aus der Darstellung abgeleitet werden kann, ein umfangreiches und wichtiges Thema, das noch weitere Abklärung bedarf.

IV - LITERATURVERZEICHNIS

(1) ABRAHAM, A.D., SEKERIS, C.E.: Corticosteroid binding macromolecules in the nucleus and cytosol of rat thymus cells. Biochim. biophys. Acta 297:142-154, (1973).

(2) ACS, Zs., STARK, E., FOLLY, G.: Steroid-binding properties of corticosteroid receptors in different target tissues of the rat. J. Steroid Biochem. 6 (7):1127-1130, (1975).

(3) AGARWAL, K.N., CARSTENSEN, H.: Uptake of corticosteroides related steroids and their water soluble esters by human erythrocytes with studies on the extraction, separation and estimation of some of the esters. Acta endocr. (Kbh) 47:Suppl. 93:37-52, (1964).

(4) ANDERSON III, N.S., FANESTIL, D.D.: Corticoid receptors in rat brain: Evidence for an aldosterone receptor. Undocrinology 98(3):676-684, (1976).

(5) ASMAL, A.C., BUTTERFIELD, W.J.H., COLLINS, K.J., FEW, J.D.: Arteriovenous studies on the uptake and metabolism of cortisol in the human forearm. Clin. Sci. Mol. Med. 47:345-358, (1974).

(6) AUGUSTYN, J.M., BRUNKHORST, W.K.: Studies of corticosterone binding and metabolism in rat thymocytes. Biochim. biophys. Acta 264:557-565, (1972).

(7) AUGUSTYN, J.M., BRUNKHORST, W.K.: Studies on the nature of the corticosterone-receptor complex in rat thymocytes. Biochim. biophys. Acta 264:566-572, (1972).

(8) AXELROD, L.R.: The metabolism of corticosteroids by incubated and perfused brain tissues. In: Influence of hormones on the nervous system. Proceedings of the International Society of Psychoneuroendocrinology. D.H. Ford/Ed.; S. Karger, Basel, (1971).

(9) AXELROD, L.R., KRAEMER, D.C., BURDETT, J., Jr., GOLDZIEHER, J.W.: Biosynthesis of 11-hydroxyandrostenedione by human and baboon adrenals. Acta endocr. 72:545-550, (1973).

(10) BAILEY, E., GREAVES, M.S., MURPHY, D., WEST, H.F.: Corticosteroid metabolism and rheumatoid arthritis. Ann. rheum. Dis. 25:516-524, (1966).

(11) BAILLIE, A.H., CALMAN, K.C., MILNE, J.A.: Histochemical distribution of hydroxysteroid dehydrogenases in human skin. Brit. J. Derm. 77:610-616, (1965).

(12) BAILLIE, A.H., THOMSON, J., MILNE, J.A.: The distribution of hydroxysteroid dehydrogenase in human sebaceous glands. Brit. J. Derm. 78:451-457, (1966).

(13) BALIKIAN, H.M.: Metabolism of aldosterone by the splanchnic organs of the dog. Endocrinology 89:1309-1316, (1971).

(14) BALLARD, P.L., BALLARD, R.A.: Glucocorticoid receptors and the role of glucocorticoids in fetal lung development. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 69:2668-2672, (1972).

(15) BARON, D.N., ABELSON, D.: Cortisone and hydrocortisone in cerebrospinal fluid. Nature 173:174, (1954).

(16) BERLINER, D.L., DOUGHERTY, T.F.: Metabolism of cortisol by loose connective tissue "in vitro". Proc. Soc. exp. Biol. Med. 98:3-6, (1958).

(17) BERLINER, D.L., GROSSER, B.I., DOUGHERTY, T.F.: The metabolism of cortisol in eviscerated rats. Arch. Biochem. Biophys. 77:81-88, (1958).

(18) BERLINER, D.L., SWIM, H.E., DOUGHERTY, T.F.: Metabolism of [4-C^{14}] corticosterone by fibroblasts, strain U12-79. Biochim. biophys. Acta 38:184-186, (1960).

(19) BERLINER, D.L., DOUGHERTY, T.F.: Influence of reticuloendothelial and other cells on the metabolic fate of steroids. Ann. N.Y. Acad. Sci. 88:14-29, (1960).

(20) BERLINER, D.L., DOUGHERTY, T.F.: Hepatic and extrahepatic regulation of corticosteroids. Pharmacol. Rev. 13:329-359, (1961).

(21) BERLINER, D.L., DOUGHERTY, T.F., BERLINER, M.L.: Corticosteroid-tissue interactions. Metabolism 10:966-989, (1961).

(22) BERLINER, D.L.: Biotransformations of steroids by skin. Adv. Biol. Skin 12:357-365, (36.Ref.), (1972).

(23) BESCH, P.K., BROWNELL, K.A., HARTMAN, F.A., WATSON, D.J.: Adrenocortical steroid profile in the hypertensive dog. Acta endocr. (Kbh) 39:355-370, (1962).

(24) BLEDSOE, T., LIDDLE, G.W., RIONDEL, A., ISLAND, D.P., BLOOMFIELD, D., SINCLAIR-SMITH, B.: Comparative fates of intravenously and orally administered aldosterone: Evidence for extrahepatic formation of acid-hydrolyzable conjugate in man. J. clin. Invest. 45:264-269, (1966).

(25) BOTTOMS, G.D., STITH, R.D., BURGER, R.O.: Distribution of radioactivity in different tissues of pigs after ^{3}H-hydrocortisone injection. Proc. Soc. exp. Biol. Med. 132:1133-1136, (1969).

(26) BOUGAS, J., FLOOD, C., LITTLE, B., TAIT, J.F., TAIT, S.A.S., UNDERWOOD, R.: Dynamic aspects of aldosterone metabolism. Blackwell Sci. Publ., Oxford, (1964), (S.25).

(27) BRADLOW, H.L., ZUMOFF, B., MONDER, C., HELLMAN, L.: C-21 oxidation of cortisol in man. J. clin. Endocr. Metab. 37:805-810, (1973).

(28) BRIGGS, M.H., BROTHERTON, J.: In: Steroid Biochemistry and Pharmacology. Academic Press Inc., London LTD. (1970), (S. 18, 19, 53, 61-71, 75, 79, 80, 81, 142-145, 155-157, 195-200).

(29) BROWN-GRANT, K., FORCHIELLI, E., DORFMAN, R.I.: The Δ^4-hydrogenases of guinea pig adrenal gland. J. biol. Chem. 235:1317-1320, (1960).

(30) BRUNKHORST, W.K.: Intracellular binding of corticosterone in thymus tissue. Biochem. Biophys. Res. Commun. 35:880-886, (1969).

(31) BURSTEIN, S., DORFMAN, R.I.: Steroid metabolism in guinea pigs: Metabolism of cortisol (hydrocortisone) in vivo. J. biol. Chem. 213:581-595, (1955).

(32) BURSTEIN, S., BHAVANI, B.R., GUT, M.: Enzymatic 2-alpha-hydroxylation of 4-^{14}C-cortisol in guinea pigs in vitro. J. biol. Chem. 240:2845-2849, (1965).

(33) BURTON, A.F.: The binding and metabolism of cortisol-4-C^{14} by lymphatic tissue and tumors of rats and mice. Cancer Res. 24:470-474, (1964).

(34) BURTON, A.F.: Inhibition of 11ß-hydroxysteroid dehydrogenase activity in rat and mouse tissues in vitro and in vivo. Endocrinology 77:325-331, (1965).

(35) BUSH, I.E., WILLOUGHBY, M.: The excretion of allotetrahydrocortisol in human. Biochem. J. 67:689-700, (1957).

(36) CARRIE, C., RUHRMANN, H.: Über den Gehalt der Hautoberflächenlipoide mit 17-ketosteroiden. Hautarzt 6:404-407, (1955).

(37) CARROLL, B.J., HEATH, B., JARRETT, D.B.: Corticosteroids in brain tissue. Endocrinology 97(2):290-300, (1975).

(38) CATT, K.J.: ABC of endocrinology. V. Adrenal Cortex Lancet 1:1275-1283, (25 Ref.), (1970).

(39) CHANG, E., MITTELMAN, A., ROSEN, F.: The metabolism in vitro of [4-^{14}C] cortisone by lymphosarcoma P1798. Biochim. biophys. Acta 90:600-605, (1964).

(40) COHN, G.L., HUME, M., BONDY, P.K.: The "in vivo" glucuronide conjugation of 17-ketosteroids by the dog kidney. Proc. First int. Congr. Endocr., Abstract 366, Copenhagen, (1960).

(41) COHN, P., RICHTER, D.: Enzymic development and maturation of the hypothalamus. J. Neurochem. 1:166-172, (1956).

(42) COOK, T.J., LORINCZ, A.L.: Enzymatic determination of hydroxysteroids in human skin surface lipids. J. Invest. Derm. 41:265-268, (1963).

(43) DAO, T.L., LIBBY, P.R.: Conjugation of steroid hormones by normal and neoplastic tissues. J. clin. Endocr. 28:1431-1439, (1968).

(44) DECK, K.A., SIEGENTHALER, W.E.: Further experimental evidence for the formation of the acid hydrolyzable conjugate of aldosterone by the kidney. Acta endocr. 55:637-647, (1967).

(45) DECK, K.A., SIEGENTHALER, W.E.: Transport of aldosterone and of the acid labile conjugate of aldosterone by tubular cells of the kidney. Acta endocr. (Kbh) 55:648-655, (1967).

(46) DE COURCY, C.: The reduction of the C-20 carbonyl group of tetrahydrocortisone by kidney homogenates. J. biol. Chem. 229:935-944, (1957).

(47) DE MOOR, P., HEIRWEGH, K., HEREMANS, J.F., DECLERCK-RASKIN, M.: Protein binding of corticoids studied by gel filtration. J. clin. Invest. 41:816-827, (1962).

(48) DE MOOR, P., STEENO, O.: About the existence in or on erythrocytes of a specific cortisol binding agent. J. Endocr. 26: 301-302, (1963).

(49) DESHPANDE, N., JENSEN, V., CARSON, P., BULBROOK, R.D., DOOUSS, T.W.: Adrenal function in breast cancer: Biogenesis of androgens and cortisol by the human adrenal gland in vivo. J. Endocr. 47:231-242, (1970).

(50) DeVENUTO, F., WESTPHAL, U.: Chemical fate of Cortisol-4-C^{14} in the muscle of normal and stressed rats. Fed. Proc. 17:211, (1958).

(51) DeVENUTO, F., CHADER, G.: Interactions between cortisol or corticosterone and fractions of rat thymus, brain and heart cell. Biochim. biophys. Acta 121:151-158, (1966).

(52) DIXON, R., PENNINGTON, G.W.: The isolation and identification of extremely polar unconjugated steroids in human pregnancy urine. J. Endocr. 34:281-288, (1966).

(53) DIXON, R., PENNINGTON, G.W.: In vivo 6 beta-hydroxylation of 20 beta-dihydrocortisol. Steroids 12:423-433, (1968).

(54) DIXON, R., PENNINGTON, G.W.: 6-beta-hydroxycortisol metabolism in man. Steroids 13:529-538, (1969).

(55) DORFMAN, R.I., UNGAR, F.: In: Metabolism of steroid hormones, Burgess Pub. Co., Minneapolis, (1953), (S.137).

(56) DORFMAN, R.I.: Special aspects of adrenocortical steroid metabolism. Ann. N.Y. Acad. Sci. 61:291-296, (1955).

(57) DORFMAN, R.I.: Biochemistry of steroid hormones. Ann. Rev. Biochem. 26:523-560, (1957).

(58) DOUGHERTY, T.F., BIGLER, R., SCHNEEBELL, G.L., SALHANICK, H.A.: On the localization of steroid hormones in connective tissue. Ann. N.Y. Acad. Sci. 64:466-475, (1956).

(59) DOUGHERTY, T.F., BERLINER, M.L., BERLINER, D.L.: Hormonal influence on lymphocyte differentiation from RES cells. Ann. N.Y. Acad. Sci. 88:78-82, (1960).

(60) DOUGHERTY, T.F., BERLINER, M.L., BERLINER, D.L.: 11ß-hydroxy-dehydrogenase system activity in thymi of mice following prolonged cortisol treatment. Endocrinology 66:550-558, (1960).

(61) DUBOVYI, M.I.: The secretion of sex steroids in some skin diseases. Ukrain. Biochem. Lhur 26:3, (1954).

(62) DUBOVYI, M.I.: Content of steroid hormones in the skin fat. Vestnik. Dermatolog. Venerol. 34:10-19, (1960).

(63) EIK-NES, K., NELSON, D.H., SAMUELS, L.T.: Determination of 17, 21-hydroxycorticosteroids in plasma. J. clin. Endocr. 13:1280-1282, (1953).

(64) EIK-NES, K.B., BRIZZEE, K.R.: Concentration of tritium in brain tissue of dogs given [1,2-$^{3}H_2$] cortisol intravenously. Biochim. biophys. Acta 97:320-333, (1965).

(65) ELATTAR, T., GUSTAFSON, G.M., FORSHAM, P.H., WONG, D.G., Burky, R.E.: Early metabolism "in vivo" of (4-^{14}C) pregn-4-ene-11ß, 17α ,21-triol-3,20-dione in synovial fluid. Excerpta Medica, International Congress Series No. 111, Abstract 515, (1966).

(66) ELATTAR, T.M.A., GUSTAFSON, G.M., WONG, D.G.: Comparative metabolism in vivo of [4-^{14}C] cortisol in synovial fluid in the normal, rheumatoid and osteoarthritis knee. Biochim. biophys. Acta 137:375-387, (1967).

(67) ELATTAR, T.M.A., MURRAY, W.R., ANDERSON, C.E.: In vivo catabolism of [4-^{14}C] cortisol in synovial fluid of the rheumatoid and osteoarthritis knee. Arthritis Rheuma. 11:178-183, (1968).

(68) ELATTAR, T.M.A.: Study of the metabolism of cortisol. Arthritis Rheum. 11:804, (1968).

(69) ELATTAR, T.M.A.: Transformation of cortisol in rheumatoid synovial tissue in vitro. J. clin. Endocr. 31:334-336, (1970).

(70) FARESE, R.V., PLAGER, J.E.: The in vitro red blood cell uptake of C^{14} cortisol; studies of plasma protein, binding of cortisol in normal and abnormal states. J. clin. Invest. 41:53-60, (1962).

(71) FAZEKAS, A.T.A.: Distribution of corticosteroid fractions in canine tissues. Endokrinologie 57:159-165, (1971) (Ger).

(72) FAZEKAS, I.GY.: Mineralcorticoid in musculature of rabbits with normal and hypertrophic adrenals. Arch. exp. Path. Pharmakol. 229:152-160, (1956) (Ger).

(73) FAZEKAS, I.GY.: On the corticosteroid content of various organs and tissues. Folia Endocr. (Pisa) 14:400-417, (1961) (Ger).

(74) FERGUSON, M.M., GLEN, J.B., MASON, D.K.: Cortisol utilization by salivary gland, kidney and adrenal cortex. J. Endocr. 47:511-515, (1970).

(75) FIESER, L.F., FIESER, M.: Steroids. Reinhold, New York (1959).

(76) FISHER, H.: Considerations on improved preservation of erythrocytes. Folia Haemat. (Leipzig) 78:624-632, (1962) (Ger).

(77) FLOOD, C., PINCUS, G., TAIT, J.F., TAIT, S.A.S., WILLOUGHBY, S.: A comparison of the metabolism of radioactive 17-isoaldosterone and aldosterone administered intravenously and orally to normal human subjects. J. clin. Invest. 46:717-727, (1967).

(78) FORKER, A.D., BOLINGER, R.E., MORRIS, J.H., LARSON, W.E.: Metabolism of cortisol-C^{14} by human peripheral leukocyte cultures from leukemic patients. Metabolism 12:751-759, (1963).

(79) FUKUSHIMA, D.K., BRADLOW, H.L., HELLMAN, L., ZUMOFF, B., GALLAGHER, T.F.: Metabolic transformation of hydrocortisone-4-C^{14} in normal men. J. biol. Chem. 235:2246-2252, (1960).

(80) FUNDER, J.W., FELDMAN, D., EDELMAN, I.S.: Specific aldosterone binding in rat kidney and parotid. J. Steroid Biochem. 3:209-218, (1972).

(81) GALLAGHER, T.F.: Steroid hormone metabolism and the control of adrenal secretion. Harvey Lect. Series 52:1-22, (1958).

(82) GALLAGHER, T.F., BRADLOW, H.L., MILLER, D.G., ZUMOFF, B., HELLMAN, L.: Steroid hormone metabolism in chronic lymphatic leukemia. J. clin. Endocr. 22:1049-1056, (1962).

(83) GALLAGHER, T.F., HELLMAN, L., ZUMOFF, B., MILLER, D.G.: Steroid hormone metabolism in chronic myelogenous leukemia. Blood 25: 743-748, (1965).

(84) GANIS, F.M., AXELROD, L.R., MILLER, L.L.: The metabolism of hydrocortisone by kidney tissue in vitro. J. biol. Chem. 218: 841-848, (1956).

(85) GERLACH, J.L., McEWEN, B.S.: Rat brain binds adrenal steroid hormone: radioautography of hippocampus with corticosterone. Science 175:1133-1136, (1972).

(86) GEYER, G.: Distribution of hydrocortisone in human body. Klin. Wschr. 68:523-526, (1956) (Ger).

(87) GHOSH, P.C., PENNINGTON, G.W.: Metabolism of cortisol in Cushing's syndrom. Steroids 14:369-380, (1969).

(88) GIANNOPOULOS, G., MULAY, S., SOLOMON, S.: Cortisol receptors in rabbit fetal lung. Biochem. Biophys. Res. Commun. 47:411-418, (1972).

(89) GIANNOPOULOS, G.: Glucocorticoid receptors in lung. I. Specific binding of glucocorticoids to cytoplasmic components of rabbit fetal lung. J. biol. Chem. 248:3876-3883, (1973).

(90) GIANNOPOULOS, G., MULAY, S., SOLOMON, S.: Glucocorticoid receptors in lung. II. Specific binding of glucocorticoids to nuclear components of rabbit fetal lung. J. biol. Chem. 248:5016-5023, (1973).

(91) GIANNOPOULOS, G.: Levels of glucocorticoid receptors in lungs of various species during development. Fed. Proc. 32:651, (1973).

(92) GIANNOPOULOS, G.: Uptake and metabolism of cortisone and cortisol by the fetal rabbit lung. Steroids 23:845-853, (1974).

(93) GLENN, E.M.: In vivo studies on metabolism of cortisone. Fed. Proc. 13:55, (1954).

(94) GOLD, N.I.: Partial characterization of the metabolites of cortisol-4-C^{14} in the dog, I. The intact dog. J. biol. Chem. 236:1924-1929, (1961).

(95) GOLD, N.I.: Partial characterization of the metabolites of cortisol-4-C^{14} in the dog, II. The totally hepatectomized dog. J. biol. Chem. 236:1930-1933, (1961).

(96) GRANT, J.K.: The metabolism of steroids by skin in man. Brit. J. Derm. 81:Suppl.2:18-22, (1968).

(97) GREAVES, M.S., WEST, H.F.: Cortisol and cortisone in saliva of pregnancy. J. Endocr. 26:189-195, (1963).

(98) GREAVES, M.S.: The in vivo catabolism of cortisol by human skin. J. Invest. Derm. 57:100-107, (1971).

(99) GROSSER, B.I., BLISS, E.L.: Metabolism of 11-hydroxysteroids by rat cerebral cortex in vitro. Fed. Proc. 22:271, (1963).

(100) GROSSER, B.I.: 11ß-hydroxysteroid metabolism by mouse brain and glioma 261. J. Neurochem. 13:475-478, (1966).

(101) GROSSER, B.I., BLISS, E.L.: Metabolism of 11ß-hydroxysteroids by cerebral tissues in vitro. Steroids 8:915-928, (1966).

(102) GROSSER, B.I., AXELROD, L.R.: Acetylation of cortisol by neonatal rat brain in vitro. Steroids 9:229-234, (1967).

(103) GROSSER, B.I., AXELROD, L.R.: Conversion of cortisol to cortisol acetate, cortisone acetate and cortisone by the developing primate brain. Steroids 11:827-836, (1968).

(104) GROSSER, B.I., STEVENS, W., BRUENGER, F.W., REED, D.J.: Corticosterone binding by rat brain cytosol. J. Neurochem. 18: 1725-1732, (1971).

(105) GROSSER, B.I., REED, D.J.: Uptake and metabolism of cortisol and corticosterone by rat cerebral cortex in vivo. Exp. Neurol. 36:127-135, (1972).

(106) GROSSER, B.I., STEVENS, W., REED, D.J.: Properties of corticosterone-binding macromolecules from rat brain cytosol. Brain Res. 57:387-395, (1973).

(107) HALEY, H.B., DIMICK, D.F., WILLIAMSON, M.B.: Corticosteroid metabolism by human breast tumor tissue. Surg. Gynec. Obstet. 123:812-818, (1966).

(108) HELLMAN, L., NAKADA, F., ZUMOFF, B., FUKUSHIMA, D., BRADLOW, H.L., GALLAGHER, T.F.: Renal capture and oxidation of cortisol in man. J. clin. Endocr. 33:52-62, (1971).

(109) HENKIN, R.I., CASPER, A.G.T., BROWN, R., HARLAN, A.B., BARTTER, F.C.: Presence of corticosterone and cortisol in the central and peripheral nervous system of the cat. Endocrinology 82: 1058-1061, (1968).

(110) HSIA, S.L., WITTEN, V.H., HAO, Y.L.: In vitro metabolic studies of hydrocortisone-4-C^{14} in human skin. J. Invest. Derm. 43: 407-411, (1964).

(111) HSIA, S.L., HAO, Y.L.: Identification of metabolites of hydrocortisone-4-^{14}C in human skin. Fed. Proc. 24:574, (1965).

(112) HSIA, S.L., MUSSALLEM, A.J., WITTEN, V.H.: Further metabolic studies of hydrocortisone-4-^{14}C in human skin. J. Invest. Derm. 45:384-390, (1965).

(113) HSIA, S.L., HAO, Y.L.: Metabolic transformations of cortisol-4-^{14}C in human skin. Biochem. 5:1469-1474, (1966).

(114) HSIA, S.L., HAO, Y.L.: Transformation of cortisone to cortisol in human skin. Steroids 10:489-499, (1967).

(115) HUDSON, R.W., KILLINGER, D.W.: The in vitro biosynthesis of 11-hydroxyandrostenedione by human adrenal homogenates. J. clin. Endocr. Metab. 34:215-224, (1972).

(116) HUDSON, R.W., SCHACHTER, H., KILLINGER, D.W.: The conversion of cortisol to 11ß-hydroxyandrostenedione by beef adrenal tissue. Endocrinology 95:38-47, (1974).

(117) HURLOCK, B., TALALAY, P.: Microsomal 3α- and 11ß-hydroxysteroid dehydrogenases. Arch. Biochem. Biophys. 80:468-470, (1959).

(118) JACOBSON, E.D., KALLAL, T.J.: 17 Hydroxycorticosteroids in the stomach. Proc. Soc. exp. Biol. Med. 109:884-886, (1962).

(119) JENKINS, J.S.: Metabolism of cortisol by the human adrenal cortex in vitro. J. clin. Endocr. 25:649-654, (1965).

(120) JENKINS, J.S.: The metabolism of cortisol by human extrahepatic tissues. J. Endocr. 34:51-56, (1966).

(121) JENKINS, J.S., KEMP,N.H.: Metabolism of cortisol by human leukemic cells. J. clin. Endocr. 29:1217-1221, (1969).

(122) KAISER, N., MILHOLLAND, R.J., ROSEN, F.: Glucocorticoid-binding macromolecules in rat and mouse thymocytes. J. biol. Chem 248: 478-483, (1973).

(123) KARL, H.J.: Adrenal cortex function in humans. Nuclear Med. Suppl. 2:365-369, (1965) (Ger).

(124) KARL, H.J., RAITH, L., ENGELHARDT, E.: In vitro transformation of cortisol by human adipose tissue. Horm. Metab. Res. 1:95, (1969).

(125) KATZ, F.H., LIPMAN, M.M., FRANTZ, A.G., JAILER, J.W.: The physiologic significance of 6ß-hydroxycortisol in human corticoid metabolism. J. clin. Endocr. 22:71-77, (1962).

(126) KATZMANN, P.A., DOISY, E.A. Jr., MATSCHINER, J.T.: Metabolism of steroids. Ann. Rev. Biochem. 28:257-290, (1959).

(127) KAVALER, F., KIMEL, V.M.: Biochemical and physiological differentiation during morphogenesis; acetylcholin-esterase activity of motor cortex of fetal guinea pig. J. Comp. Neurol. 96:113-119, (1952).

(128) KEMÉNY, V., FARKAS, K., KÖRÖSI, A., SZARVAS, R.: The cortisol metabolism of human pulmonary tumour tissue. Experientia 24: 611-613, (1968).

(129) KOEHLER, D.E., MOSCONA, A.A.: Corticosteroid receptors in the neural retina and other tissues of the chick embryo. Arch. Biochem. Biophys. 170(1):102-113, (1975).

(130) KOERNER, D.R.: 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase of lung and testis. Endocrinology 79:935-938, (1966).

(131) KOHLER, H., HESSE, R.H., PECHET, M.M.: The metabolism of aldosterone. Metabolic pathways, isolation, characterization and synthesis of metabolites. J. biol. Chem. 239:4117-4123, (1964).

(132) KORNEL, L., MOORE, J.T. Jr., NOYES, I.: Corticosteroids in human blood: IV. Distribution of cortisol and its metabolites between plasma and erythrocytes in vivo. J. clin. Endocr. 30: 40-50, (1970).

(133) KRUSKEMPER, H.L., FORCHIELLI, E., RINGOLD, H.J.: Δ^5-3-keto isomerases-specificity and inhibition studies in bovine adrenal homogenate fractions and distribution in rat tissues. Steroid 3:295-309, (1964).

(134) KUMAGAI, L.F., SIMONS, E.L., BROWN, H., WEST, C.D.: The transformation in vivo of radioactive cortisol in normal humans. Steroids [6] Suppl. 2:119-131, (1965).

(135) LAMBERT, M., PENNINGTON, G.W.: Isolation and identification of the 20-beta-hydroxy derivatives of 6-beta-hydroxycortisol and 6-beta-hydroxycortisone in liquor amnii. Nature 203:656, (1964).

(136) LEMAIRE, I., DUPONT, A., BASTARACHE, E., LABRIE, F., FORTIER, C.: Some characteristics of corticosterone uptake by the dorsal hippocampus and the adenohypophysis in the rat. Can. J. Physiol. Pharmacol. 52:451-457, (1974).

(137) LEONHARDT, H.: Binde- und Stützgewebe. In: Histologie und Zytologie des Menschen. Georg Thieme Verlag, Stuttgart (1967) (S.87-135).

(138) LIEBERMAN, S., TEICH, S.: Recent trends in the biochemistry of the steroid hormones. Pharmacol. Rev. 5:285-380, (1953).

(139) LIPMAN, M.M., KATZ, F.H., JAILER, J.W.: An alternate pathway for cortisol metabolism: 6ß-hydroxycortisol production by human tissue slices. J. clin. Endocr. 22:268-272, (1962).

(140) LIPSETT, M.B.: Factors influencing the rate of metabolism of steroid hormones in man. Ann. N.Y. Acad. Sci. 179:442-449 (43 Ref.), (1971).

(141) LOWY, J., ALBEPART, T., PASQUALINI, J.R.: ^{3}H-Corticosterone metabolism in the rat. Acta endocr. (Kbh) 61:483-493, (1969).

(142) LUETSCHER, J.A., HANCOCK, E.W., CAMARGO, C.A., DOWDY, A.J., NOKES, G.W.: Conjugation of 1,2-^{3}H-aldosterone in human liver and kidneys and renal extraction of aldosterone and labeled compounds from blood plasma. J. clin. Endocr. 25:628-638, (1965).

(143) MAHESH, V.B., ULRICH, F.: Distribution of enzyme systems responsible for steroid metabolism in different tissues and subcellular fractions. Nature (London) 184 (Suppl.15):1147-1148, (1959).

(144) MAHESH, V.B., ULRICH, F.: Metabolism of cortisol and cortisone by various tissues and subcellular particles. J. biol. Chem. 235:356-360, (1960).

(145) MALETTA, G.J., VERNADAKIS, A., TIMIRAS, P.S.: Acetylcholinesterase activity and protein content of brain and spinal cord in developing rats after prenatal X-irradiation. J. Neurochem. 14:647-652, (1967).

(146) MALKINSON, F.D., FERGUSON, E.A.: Percutaneous absorbtion of hydrocortisone 4-C^{14} in 2 hormone subjects. J. Invest. Derm. 25:281-283, (1955).

(147) MALKINSON, F.D., LEE, M.W., CUTUKOVIC, I.: In vitro studies of adrenal steroids metabolism in the skin. J. Invest. Derm. 32(2), Part I, 101-107, (1959).

(148) MANN, M., SIEGENTHALER, W., KRAMPFF, K., ZINGG, E.: Experimentelle Untersuchungen zur Frage des extrahepatischen Stoffwechsels von Aldosteron. Klin. Wschr. 42:319-321, (1964).

(149) MARTIN, J., BATA, G., MOLL, A., ENDROCZI, E.: Utilization of cortison and hydrocortisone on the basis of experiments in vivo and in vitro. Acta Physiol. Acad. Sci. Hung. 11(3-4):385-391, (1957).

(150) MAYER, M., ROSEN, F.: Glucocorticoid receptors in skeletal muscle. Israel J. Med. Sci. 11:699-707, (1975).

(151) McEWEN, B.S., WEISS, J.M., SCHWARTZ, L.S.: Selective retention of corticosterone by limbic structures in rat brain. Nature (London) 220:911-912, (1968).

(152) McEWEN, B.S., WEISS, J.M., SCHWARTZ, L.S.: Uptake of corticosterone by rat brain and its concentration by certain limbic structures. Brain Res. 16:227-241, (1969).

(153) McEWEN, B.S., PLAPINGER, L.: Association of ^{3}H corticosterone-1,2 with macromolecules extracted from brain cell nuclei. Nature (London) 226:263-265, (1970).

(154) McEWEN, B.S., WALLACH, G.: Corticosterone binding to hippocampus: Nuclear and cytosol binding in vitro. Brain Res. 57:373-386, (1973).

(155) McEWEN, B.S., DE KLOET, R., WALLACH, G.: Interactions in vivo and in vitro of corticoids and progesterone with cell nuclei and soluble macromolecules from rat brain regions and pituitary. Brain Res. 105:129-136, (1976).

(156) McEWEN, B.S.: Interactions between hormones and nerve tissue. Sci. Am. 235(1):48-58, (1976).

(157) MEIGS, R.A., ENGEL, L.L.: The metabolism of adrenocortical steroids by human tissues. Endocrinology 69:152-162, (1961).

(158) MEYER, A.S.: Chemical transformations of steroids by adrenal perfusion; blood incubations and perfusions with cortisone. J. biol. Chem. 203:469-487, (1953).

(159) MIGEON, C.J., LAWRENCE, B., BERTRAND, J., HOLMAN, G.H.: In vivo distribution of 17-hydroxycorticosteroids between the plasma and red blood cells of man. J. clin. Endocr. 19:1411-1419, (1959).

(160) MIYABO, S., KISHIDA, S., HISADA, T.: Metabolism and conjugation of cortisol by various dog tissues in vitro. J. Steroid Biochem. 4:567-576, (1973).

(161) MIYABO, S., KISHIDA, S., HISADA, T.: Metabolism and conjugation of 20ß-dihydrocortisol by various dog tissues in vitro. J. Steroid Biochem. 6:143-146, (1975).

MOHRING, J. & B., ENDRES, P., SIEGENTHALER, W.: On the extrahepatic metabolism of aldosterone. I. Production and excretion of 18-aldosteroneglucuronide in the dog kidney. Z. ges. exp. Med. 145:270-277, (1968), (Ger).

MURATA, S.T., SHIKITA, M., TAMAOKI, B.I.: Conversion of cortisol to tetrahydrocortisol by cultured chickembryo femora. Biochim. biophys. Acta 117:424-432, (1966).

MURATA, S.T., ENDO, H., TAMAOKI, B.I.: Identification of metabolites of cortisol in cultured bone and their effects upon bone formation. Biochim. biophys. Acta 136:379-385, (1967).

MURPHY, D., WEST, H.F.: The metabolism of [1,2-^{3}H] cortisol in rheumatoid synovial tissue. J. Endocr. 41:xxvii, (1968).

MURPHY, D., WEST, H.F.: Catabolism and interconversion of cortisol and cortisone in human synovial tissue in vitro. Ann. rheum. Dis. 28:637-643, (1969).

NABADA, F., FUKUSHIMA, D.K., BRADLOW, H.L., HELLMAN, L., GALLAGHER, T.F.: Metabolism of hydrocortisone 21-sulfate in man. J. clin. Endocr. 29:1330-1334, (1969).

OHTSUKA, E., KOIDE, S.S.: Incorporation of steroids into human, dog, and duck erythrocytes. Gen. Comp. Endocr. 12:596-603, (1969).

OLPE, H.R., McEWEN, B.S.: Glucocorticoid binding to receptor-like proteins in rat brain and pituitary: Ontogenetic and experimentally induced changes. Brain Res. 105:121-128, (1976).

ONO, S., HIRANO, H., OBARA, K.: Degradation of the sidechain of cortisol by lens homogenate. Tohoku J. exp. Med. 104:171-175, (1971).

ONO, S., HIRANO, H., OBARA, K.: Presence of cortisol-binding protein in the lens. Ophthal. Res. 3:233-240, (1972).

ONO, S., HIRANO, H., OBARA, K.: Study on the conjugation of cortisol in the lens. Ophthal. Res. 3:307-310, (1972).

ONO, S., HIRANO, H., OBARA, K.: Further studies on the cortisol-binding protein in the lens. Ophthal. Res. 4:193-198, (1972/73).

ONO, S., HIRANO, H., OBARA, K.: Presence of steroid-binding macromolecule in the retina. Exp. Eye Res. 16:517-518, (1973).

PALADE, G.E.: Studies on endoplasmic reticulum. Simple dispositions in cells in situ. J. biophys. biochem. Cytol. 1:567-582, (1955).

PALADE, G.E., SIEKEVITZ, P.: Liver microsomes; integrated morphological and biochemical study. J. biophys. biochem. Cytol. 2:171-200, (1956).

(177) PALADE, G.E., SIEKEVITZ, P.: Pancreatic microsomes; an integrated morphological and biochemical study. J. biophys. biochem. Cytol. 2:671-690, (1956).

(178) PASQUALINI, J.R.: In: Androgens in Normal and Pathological Conditions, Proceedings of the Second Symposium on Steroid Hormones. Excerpta Medica Foundation, Ghent, (1965), (S. 137).

(179) PASQUALINI, J.R.: Simultaneous metabolism of ^{3}H-corticosterone 21-sulfate and corticosterone-^{14}C in man. J. clin. Endocr. 27:885-891, (1967).

(180) PASQUALINI, J.R., UHRICH, F.: Simultaneous transformation of [^{14}C] corticosterone and [^{3}H] corticosterone 21-sulphate into 3α, 11ß, 20ß, 21-tetrahydroxy-5ß-pregnan-glucuronide in man. J. Endocr. 42:483-484, (1968).

(181) PASQUALINI, J.R., NGUYEN, B.L., UHRICH, F., WIQVIST, N., DICZFALUSY, E.: Cortisol and cortisone metabolism in the human foeto-placental unit at midgestation. J. Steroid Biochem. 1:209-219, (1970).

(182) PASQUALINI, J.R., COSTA-NOVAES, S., ITO, Y., NGUYEN, B.L.: Reciprocal cortisol-cortison conversions in the total tissue and subcellular fractions of foetal and adult guinea pig liver. J. Steroid Biochem. 1:341-347, (1970).

(183) PETERSON, N.A., CHAIKOFF, I.L.: Uptake of intravenously-injected [4-^{14}C] cortisol by adult rat brain. J. Neurochem. 10:17-23, (1963).

(184) PETERSON, N.A., CHAIKOFF, I.L., JONES, C.: The in vitro conversion of cortisol to cortisone by subcellular brain fractions of young and adult rats. J. Neurochem. 12:273-278, (1965).

(185) PETERSON, R.E., WYNGAARDEN, J.B., GUERRA, S.L., BRODIE, B.B., BUNIM, J.J.: The physiological disposition and metabolic fate of hydrocortisone in man. J. clin. Invest. 34:1779-1794, (1955).

(186) PETERSON, R.E., PIERCE, C.E.: The metabolism of corticosterone in man. J. clin. Invest. 39:741-757, (1960).

(187) PHILIP, E.L.I., MAROTTA, S.F.: Cellular variation in the uptake and metabolism of cortisol by canine erythrocytes. Acta endocr. 68:771-778, (1971).

(188) PRESSLEY, L., FUNDER, J.W.: Glucocorticoid and mineralocorticoid receptors in gut mucosa. Endocrinology 97:588-596, (1975).

(189) PSCHYREMBEL, W.: In: Klinisches Wörterbuch, 251. Aufl., Walter de Gruyter, Berlin. (1972), (S. 1212).

(190) PURDY, R.H., GROSSER, B.I., AXELROD, L.R.: The distribution of corticosteroid-21-O-acetyltransferase in the baboon brain. Steroids 11:837-850, (1968).

(191) REIF-LEHRER, L.: Uptake of [^{3}H] cortisol by chick embryo retina as a function of age. Exp. Eye Res. 19(4):323-330, (1974).

(192) ROMANOFF, L.P., SEELYE, J., RODRIGUEZ, R., PINCUS, G.: The regular occurence of 3α-allotetrahydrocortisol (3α,11ß,17α, 21-tetrahydroxyallopregnan-20-one) in human urine. J. clin. Endocr. Metab. 17:434-437, (1957).

(193) RONGONE, E.L., STRENGTH, D.R., BOCKLAGE, B.C., DOISY, E.A.: The reduction of the 4,5 double bond of steroids by bovine blood proteins. J. biol. Chem. 225(2):959-967, (1957).

(194) ROSENFELD, R.S., FUKUSHIMA, D.K., GALLAGHER, T.F.: In: "The Adrenal Cortex", ed. A.B. Eisenstein. Little, Brown, Boston. (1967) (S. 103).

(195) SANDBERG, A.A., EIK-NES, K., NELSON, D.H., TYLER, F.H.: Levels of 17-hydroxycorticosteroids in body fluids. J. Lab. Clin. Med. 43:874-879, (1954).

(196) SANDBERG, A.A., SLAUNWHITE, W.R. Jr., CARTER, A.C.: Transcortin: A corticosteroid-binding protein of plasma. III. The effects of various steroids. J. clin. Invest. 39:1914-1926, (1960).

(197) SANDOR, T., LANTHIER, A.: The metabolism of aldosterone. II. Studies in vitro and in vivo in man. Acta endocr. (Kbh.) 39:87-102, (1962).

(198) SCHAUMBURG, B.P.: Studies of the glucocorticoid-binding protein from thymocytes. Biochim. biophys. Acta 214:520-532, (1970).

(199) SCHAUMBURG, B.P., CRONE, M.: Binding of corticosterone by thymus cells, bursa cells and blood lymphocytes from the chicken. Biochim. biophys. Acta 237:494-501, (1971).

(200) SCHNEIDER, J.J., HORSTMANN, P.M.: Effects of incubating compound E and related steroids with various surviving rat tissues. J. biol. Chem. 196:629-639, (1952).

(201) SCHUBERT, K.: New knowledge in the field of steroid metabolism. Pharmazie 23:1-8, (159 Ref.), (1968) (Ger).

(202) SCHWARTZ, M.L., TATOR, C.H., HOFFMAN, H.J.: The uptake of hydrocortisone in mouse brain and ependymoblastoma. J. Neurosurg. 36:178-183, (1972).

(203) SHASKAS, J.R., BOTTOMS, G.D.: Intranuclear binding of hydrocortisone in liver and thymus tissues. Proc. Soc. exp. Biol. Med. 147:232-238, (1974).

(204) SHOLITON, L.J., WERK, E.E. Jr., MACGEE, J.: Metabolism of cortisol-4-C^{14} and cortisone-4-C^{14} by rat brain homogenates. Metabolism 14:1122-1127, (1965).

(205) SIEGENTHALER, W., PETERSON, R., FRIMPTER, G.: The renal clearance of aldosterone and its major metabolites. In: Aldosterone, an International Symposion. Blackwell, Oxford (1964), (S.51-72).

(206) SIEGENTHALER, W., WERNING, C.: Nebenniere. In: Klinische Pathophysiologie, 2. Aufl., hrsg. von Walter Siegenthaler, Georg Thieme Verlag, Stuttgart. (1973) (S. 316-341).

(207) SLOMAN, J.C., BELL, P.A.: ATP, cyclic AMP and the regulation of corticosteroid binding by rat thymus cells in vitro. J. Endocr. 67(2):27P, (1975).

(208) SLOMAN, J.C., BELL, P.A.: The dependence of specific nuclear binding of glucocorticoids by rat thymus cells on cellular ATP levels. Biochim. biophys. Acta 428:403-413, (1976).

(209) SMITH, B.T., TORDAY, J.S., GIROUD, C.J.: The growth promoting effect of cortisol on human fetal lung cells. Steroids 22:515-524, (1973).

(210) SOFFER, L.J., DORFMAN, R.I., GABRILOVE, J.L.: Catabolism of adrenocortical steroids; (Chapter 3). In: The human adrenal gland. Lea & Febiger, Philadelphia, (1961).

(211) SOUTHREN, A.L., ALTMAN, K., VITTEK, J., BONIUK, V., GORDON, G.G.: Steroid metabolism in ocular tissues of the rabbit. Invest. Ophtalmol. 15(3):222-228, (1976).

(212) SOWELL, J.G., HAGEN, A.A., TROOP, R.C.: Metabolism of ^{14}C-labelled cortisone and hydrocortisone by male rat lung tissue. Fed. Proc. 26:483, (1967).

(213) SOWELL, J.G., HAGEN, A.A., TROOP, R.C.: Metabolism of Cortisone-4-^{14}C by rat lung tissue. Steroids 18:289-301, (1971).

(214) STEVENS, W., BERLINER, D.L., DOUGHERTY, T.F.: Conjugation of steroids by liver, kidney, and intestine of mice. Endocrinology 68:875-877, (1961).

(215) STEVENS, W., GROSSER, B.I., REED, D.J.: Corticosterone-binding molecules in rat brain cytosols: regional distribution. Brain Res. 35:602-607, (1971).

(216) STEVENS, W., REED, D.J., ERICKSON, S., GROSSER, B.I.: The binding of corticosterone to brain proteins: diurnal variation. Endocrinology 93:1152-1156, (1973).

(217) STOCKIGT, J.R.: Mineralcorticoid hormones. Adv. Steroid Biochem. Pharmacol. (469 Ref.) 5:161-238, (1976).

(218) SWANECK, G.E., HIGHLAND, E., EDELMAN, I.S.: Stereospecific nuclear and cytosol aldosterone-binding proteins of various tissues. Nephron 6:297-316, (1969).

(219) SWEAT, M.L., GROSSER, B.I., BERLINER, D.L., SWIM, H.E., NABORS, C.J. Jr., DOUGHERTY, T.F.: The metabolism of cortisol and progesterone by cultured uterine fibroblasts, strain U12-705. Biochim. biophys. Acta 28:591-596, (1958).

(220) SWEAT, M.L., BRYSON, M.J.: The role of phosphopyridin nucleotides in the metabolism of cortisol by peripheral tissue. Biochim. biophys. Acta 44:217-223, (1960).

(221) TAMM, J.: Testis. In: Klinische Pathophysiologie, 2.Aufl., hrsg. von Walter Siegenthaler, Georg Thieme Verlag, Stuttgart. (1973) (S. 357).

(222) TOMKINS, G.M., ISSELBACHER, K.J.: Enzymatic reduction of cortisone. J. Am. Chem. Soc. 76:3100-3101, (1954).

(223) TOMKINS, G.M.: Enzymatic metabolism of corticosteroids. Ann. N.Y. Acad. Sci. 82:836-845, (1959).

(224) TOUCHSTONE, J.C., KASPAROW, M., ROSENTHAL, O.: Most polar steroids of human adrenal incubates. Fed. Proc. 18:340, (1959).

(225) TOUCHSTONE, J.C., GRIFFIN, J.E., KASPAROW, M.: Cortisol from human nerve. Science 141:1275-1276, (1963).

(226) TOUCHSTONE, J.C., KASPAROW, M., BLAKEMORE, W.S.: Production of 11 beta, 17, 20 alpha, 21-tetrahydroxy-pregn-4-en-3-one and the 20 beta-epimer by human adrenal tissue. J. clin. Endocr. Metab. 25:1463-1469, (1965).

(227) TOUCHSTONE, J.C., KASPAROW, M., HUGHES, P.A., HORWITZ, M.R.: Corticosteroids in human brain. Steroids 7:205-211, (1966).

(228) TOUCHSTONE, J.C., KASPAROW, M.: Isolation of 20-hydroxycorticoids from incubated human adrenal tissue. Steroids 15:227-243, (1970).

(229) TRAVIS, R.H., SAYERS, G.: Metabolism of cortisol-4-C^{14} in the dog heart-lung preparation. Endocrinology 62(6):816-821, (1958).

(230) TUZSON, J., KERTAI, P.: Cortisol metabolising activity of spleen and liver of erythroblastosis - afflicted and normal chickens in vitro. Nature (London) 196:679-680, (1962).

(231) ULSTROM, R.A., COLLE, E., BURLEY, J., GUNVILLE, R.: Adrenocortical steroid metabolism in newborn infants. II. Urinary excretion of 6ß-hydroxycortisol and other polar metabolites. J. clin. Endocr. 20:1080-1094, (1960).

(232) VERMEULEN, A.: Role of the erythrocytes in transport and metabolism of 4-^{14}C cortisol. Acta endocr. (Kbh) 37:348-352, (1961).

(233) WATANABE, H.: Binding of glucocorticoid hormones in bovine hypothalamic and pituitary cytosol. J. Steroid Biochem. 6(7):1113-1119, (1975).

(234) WILSON, H., FAIRBANKS, R., McEWEN, C., ZIFF, M.: Studies on the metabolism of adrenal cortical steroids in the synovial cavity in rheumatoid arthritis. Ann. N.Y. Acad. Sci. 61:502-510, (1955).

(235) WILSON, H., FAIRBANKS, R., SCIALABBA, D., McEWEN, C., ZIFF, M.: Metabolites of hydrocortisone and cortisone in synovial fluid in rheumatoid arthritis. J. clin. Endocr. Metab. 16:86-113, (1956).

(236) WIRA, C.R., MUNCK, A.: Glucocorticoid-receptor complexes in rat Thymus cells "Cytoplasmic"-Nuclear Transformations. J. biol. Chem. 249:5328-5336, (1974).

(237) YUDAEV, N.A., FILONOVA, E.A.: Effect of adrenosterone on conversion of hydrocortisone into cortisone in guinea-pig tissues *in vitro*. Fed. Proc. (Trans.Suppl.) 25:T69-71, (1966).

Herrn Prof. Dr. H.J. Karl danke ich herzlich
für die Überlassung des Themas und die freund-
liche Unterstützung bei der Konzeption der
vorliegenden Arbeit.

L E B E N S L A U F

Thomas Vanko MINCHEFF

8850 Donauwörth-Parkstadt
Bernhard Stocker Straße 8

Geboren:	1.Januar, 1952
Geburtsort:	New York, N.Y., U.S.A.
Staatsangehörigkeit:	Amerikanisch
Konfession:	Bulgarisch Orthodox
Eltern:	Dr.med.dent. Thomas A. Mincheff, Zahnarzt geb. 23.02.1905 in Pazardjik/Bulgarien
	Irmgard Mincheff, geb.Jakob geb. 8.04.1923 in Holzhausen, B.R.D.

SCHULBESUCH:

1957 - 1962	McKinley School, Peekskill, N.Y. Kindergarten - 4.Klasse, Elementary School
1962 - 1964	Frank G. Lindsey School, Montrose, N.Y. Elementary School, 4.-6. Klasse
1964 - 1967	Hendrick Hudson High School, Montrose, N.Y. 7.-9. Klasse
1967 - 1970	American High School, Augsburg 10.-12. Klasse, DIPLOM - 5.Juni, 1970
1970 - 1972	"American College in Paris" Paris, Frankreich - Abschlußprüfung "THE DEGREE OF ASSOCIATE IN ARTS" 22.Mai, 1972
1972 - 1974	Vorklinisches Studium an der Ludwig Maximilians-Universität, München Fakultät - Human Medizin
1974 - 1979	Klinisches Studium an der Ludwig Maximilians-Universität, München Fakultät - Human Medizin

PRÜFUNGEN:

27.08.1974	Ärztliche Vorprüfung
29.08.1975	1. Abschnitt der ärztlichen Prüfung
26.08.1977	2. Abschnitt der ärztlichen Prüfung
22.05.1979	3. Abschnitt der ärztlichen Prüfung
24.01.1979	ECMFG EXAMINATION (Amerikanisches Staatsexamen)